VOLUMEN 7 ENERO-MARZO 1954 NUM. 1

Microbiología Española

Publicada por
el Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología
y la Sociedad de Microbiólogos Españoles

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
MADRID

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
28 MAR 1956

SUMARIO

Página

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

La acción de los antibióticos sobre los fagus, por **José Vidal Munné** 3

Plantas, microbios y materia orgánica. I. La rizosfera, por **F. C. Gerretsen** 31

La naturaleza de los simbiotes intracelulares de Blatella germánica, por **Julio Pérez Silva** 51

INFORMACION

VI Congreso Internacional de Microbiología 61

Actas de la Sociedad 67

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de Revistas 69

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON PRIE L'ECHANGE
AUSTAUSCH ERWÜNSCHT
EXCHANGE DESIRED

TODA LA CORRESPONDENCIA
DEBE DIRIGIRSE A
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA
SERRANO, 113 ó 152 - MADRID - (ESPAÑA)

Número suelto: 22 pesetas. Suscripción anual (4 números): 80 pesetas.

VOLUMEN 7. ENERO-MARZO 1954 NUM. 1

Microbiología Española

Publicada por
el Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología
y la Sociedad de Microbiólogos Españoles

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
MADRID

CONSEJO DE REDACCION

Prof. Dr. don Arnaldo Socías Amorós, Director del Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología, del C. S. I. C.

Prof. Dr. don Lorenzo Vilas López, Secretario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

Dr. don Ricardo Salaya León, Bibliotecario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

Gráficas TEJARIO, S. A. Pza. del Biombo, 4-Tel. 22 12 88-Madrid

LA ACCION DE LOS ANTIBIOTICOS SOBRE LOS FAGUS (*)

por

José Vidal Munné

A partir de los primeros meses del año 1944 comenzamos a estudiar la acción de los antibióticos sobre los gérmenes patógenos y, al mismo tiempo, sobre los parásitos de éstos, los fagus, que hasta muy recientemente llamábamos bacteriófagos.

Nuestros primeros ensayos se circunscribieron preferentemente a la penicilina y a los fagus estafilo y coli.

Nuestra curiosidad fué orientada a dilucidar cómo actuaba el antibiótico frente a un fagus (el estafilo), cuyo huésped es sensible a la penicilina y sobre otro fagus (el coli), cuyo huésped es insensible al mismo antibiótico.

Los móviles de la investigación, en este caso concreto, no solamente tienen un significado de pura ciencia especulativa, sino que pueden tener un relativo valor práctico, ya que es sumamente interesante, por lo menos desde el punto de vista teórico, saber si los antibióticos destruyen a los gérmenes patógenos y, al mismo tiempo, a sus parásitos.

Caso de respetar a los fagus, el valor de los antibióticos se aumenta considerablemente, ya que para luchar contra los microbios patógenos dispondremos de unas substancias inocuas, cual los antibióticos, que pueden sumar su función esterilizadora a la de los fagus, estableciéndose de esta forma una manera de sinergia, a todas luces aprovechable en la lucha contra las enfermedades microbianas.

Este punto de vista ha sido defendido por Steinmann y MacNeal y sus colaboradores, apoyado en experimentaciones de laboratorio concluyentes.

(*) Trabajo presentado en la Sección Barcelona de la Sociedad de Microbiólogos Españoles (1952).

Por nuestra parte, independientemente de las sugestiones de los citados investigadores, hemos comprobado claramente que la penicilina no perturba, de una forma definitiva, la actividad de los fagus, como puede comprobarse en el cuadro núm. 1, que traduce parte de nuestras primeras experiencias.

CUADRO NUM. 1

CON UN GERMEN INSENSIBLE A LA PENICILINA

Tubo núm.	Cultivo coli	Penicilina	Fagus	Resultados
1	0 15	10. U. O.	—	Cultivo normal.
2	0.15	20. U. O.	—	Cultivo normal.
3	0,15	30. U. O.	—	Cultivo normal.
4	0 15	10. U. O.	0,2 c. c.	Lisis.
5	0 15	20. U. O.	0,2 c. c.	Lisis.
6	0 15	30. U. O.	0,2 c. c.	Lisis.
7	0 15	—	—	Cultivo normal.
8	0,05	—	—	Cultivo normal.
9	—	—	0,2 c. c.	Inalterable.
10	—	30. U. O.	0,2 c. c.	Inalterable.

Estos resultados son manifiestamente claros a las seis horas de estufa. Persisten a las veinticuatro horas y a los tres días.

Se ha utilizado una cepa de Escherichia coli, muy sensible al fagus.

La titulación de éste, realizada por dilución, demuestra existen más de 1.000 millones de fagus por c. c.

Es oportuno advertir que en nuestras experiencias las mezclas antibiótico-fagus han estado en contacto, por lo menos, veinticuatro horas y a la temperatura de la estufa.

Con un germen sensible a la penicilina.

Un filtrado de bacteriófago estafilo es diluído en caldo a la proporción de 1/200.

A dos tubos de esta proporción (conteniendo 10 c. c.) se añade

200 U. O. de penicilina y se colocan a la estufa durante cuarenta y ocho horas.

Tubos con el mismo volumen de caldo y la misma cantidad de penicilina se mantienen en la estufa durante las mismas horas para comprobar la permanencia del antibiótico.

Téngase en cuenta que estas experiencias iniciales se realizaron en 1944, época en la que la estabilidad de la penicilina diluída era muy débil.

Se verifica la experiencia que se detalla en el cuadro núm. 2.

CUADRO NUM. 2

Tubos	Cultivo estafilo en c. c.	Fagus + Penicilina 48 horas estufa	Fagus	Penicilina 48 horas estufa	Penicilina fresca	Resultados	
1	0,2	0,1	—	—	—	Lisis.	L
2	0,2	0.2	—	—	—	Lisis.	
3	0,2	—	0.1	—	—	Lisis.	L
4	0,2	—	0,05	—	—	Lisis.	
5	0,2	—	—	0,5	—	Cultivo.	
6	0.2	—	—	1.—	—	Cultivo.	
7	0,2	—	—	—	0,5	Inhibición.	
8	0.2	—	—	—	1.—	Inhibición.	
9	0,05	—	—	—	—	Cultivo.	
10	0.1	—	—	—	—	Cultivo.	

La persistencia de la actividad lítica de las fagus después de cuarenta y ocho horas es perfectamente clara.

Después de estas experiencias, que evidencian la insensibilidad de los fagus respecto a la penicilina, quisimos comprobar el comportamiento de los estafilococos supervivientes a la actividad inhibidora de los fagus.

Se utilizaron los cultivos procedentes de los tubos límites de las titulaciones, en los cuales la germinación ha sido retardada más allá de las

cuarenta y ocho horas. En teoría podemos suponer se trataría de elementos que han resistido la acción de los antibióticos.

Asimismo se utilizaron resiembras de estos tubos en hipótesis resistentes.

En ambas series la lisis se realizó de una manera normal y en tiempos aproximadamente idénticos a los testigos.

Estos resultados, que restaron inéditos, han sido ampliamente comprobados por Jones, Himmelweit, Faguet, Edlinger y otros en estos últimos tiempos.

Más recientemente hemos seguido nuestras investigaciones con base más amplia y utilizando una gama de cinco antibióticos y cuatro fagus. Nuestro propósito se aparta sensiblemente de los objetivos perseguidos por los diversos investigadores que, paralelamente a nosotros, han escudriñado el comportamiento de los fagus frente a los antibióticos.

Todos los investigadores cuya bibliografía hemos tenido oportunidad de consultar, se han orientado hacia la posible interferencia de los antibióticos en la actividad lítica de los fagus.

Nuestros trabajos, en algunos casos similares, han pretendido aclarar si los antibióticos puestos en contacto prolongado con los fagus ejercían alguna acción nefasta sobre su vitalidad caracterizada por su función lítica.

Para tener un concepto claro de nuestras investigaciones y de los resultados obtenidos, creemos indispensable detallar nuestro m o d u s o p e r a n d i, para luego dar cuenta esquemática de los mismos y discutir nuestras conclusiones a la vista de los hechos demostrados por los investigadores que han trabajado en el mismo campo.

METODOS DE TRABAJO

Desde que comenzamos a disponer de antibióticos de mayor pureza y, en consecuencia, de mayor estabilidad y permanencia de actuación en los medios de cultivo y en diluciones diversas, se hizo necesario revisar nuestras técnicas, ya que los resultados podían cambiar sensiblemente.

Entre una penicilina del año 1944, notoriamente impura, y que perdía en pocas horas su actividad, una vez diluída en caldo, y las penicilinas de que disponemos en la actualidad, hay casi un abismo.

Los fagus utilizados han sido cuatro: anti-eberth, anti-estafilo, anti-salmonela y anti-coli. Todos ellos han sido aislados por nosotros, hace aproximadamente más de veinte años. El fagus salmonela procede del contenido intestinal de aves afectadas de salmonela sanguinarum y se muestra activa para diversas variedades de salmonelas, entre ellas el paratifus B, el paratifus A y el paratifus C.

Los restantes fagus, coli, ebert y estafilo, han sido aislados de diversas aguas del alcantarillado de Barcelona y mantenidas constantemente por pasos sobre una amplia gama de sus gérmenes sensibles.

La determinación de la actividad del fagus se ha hecho siempre por su lisis total, en tiempos que han variado de dieciocho a cuarenta y ocho horas y en medio líquido.

Nos hemos decidido por este método por ser el que nos ha dado resultados más constantes y más uniformes.

Seducidos por las investigaciones que han realizado experimentadores diversos, especialmente franceses, trabajando en placa de agar, quisimos ensayar esta técnica, en principio más sencilla, y que comporta una valoración cuantitativa más precisa.

Hemos de confesar que en nuestras manos nos ha dado resultados netamente inferiores a los obtenidos por el procedimiento de las diluciones sariadas en medio líquido, a pesar de los posibles errores de las diluciones, tratándose de unos corpúsculos ultramicroscópicos.

A este respecto, y movidos por el escepticismo que nos despertaba el hecho de encontrar actividades fágicas por encima de valores superiores al 10^{-10}, cuando trabajábamos con la misma pipeta para las diluciones sucesivas, realizamos pruebas paralelas diversas, empleando una pipeta distinta para cada tubo de dilución. Los resultados obtenidos ofrecieron errores promedios inferiores a dos diluciones.

Por otra parte, para captar lisis valoradas en tiempo, es preciso disponer de material adecuado, como sería el microbiofotómetro de Faguet, y del cual no hemos podido disponer en nuestros numerosos ensayos.

Como muestra de las diferencias de titulación entre la técnica de la placa y las diluciones, véanse los resultados obtenidos en uno de los numerosos ensayos realizados por nosotros.

CUADRO NUM. 3

DILUCIONES

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
En placa.....	LT	LT	LP	LP	O	O	O	O
Por dilución.....	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT

Nota: LT = lisis total. LP = lisis parcial. O = cultivo normal.

Para las diluciones hemos seguido normalmente el siguiente método:

A tubos conteniendo 4,5 c. c. de medios de cultivo se les añade 0,5 c. c. de la mezcla a valorar, y se va pasando de un tubo a otro la misma cantidad, quedando en dilución geométrica de factor 10. Luego se añade 0,1 c. c. de cultivo sensible en caldo de veinticuatro horas de siembra.

Todos los ensayos van acompañados de las correspondientes series de testigos, como podrá verse en los cuadros que resumen nuestras múltiples experiencias.

Para la comprobación de la actividad de los diversos antibióticos empleados, comenzamos por estudiar los medios más convenientes para su conservación.

En estos estudios preliminares nos encontramos con lógicas sorpresas. La penicilina primitiva, notoriamente impura, todos sabíamos que en pocas horas de estar diluída en los solventes habituales del laboratorio, suero fisiológico o caldo ordinario, más allá de las cuarenta y ocho horas, había perdido la casi totalidad de su poder inhibidor. Pues bien, las penicilinas que actualmente se preparan se conservan infinitamente mejor, hasta límites por nosotros insospechados.

Véase un ejemplo:

Soluciones de penicilina de 200 U. O. por c. c. en diversos solventes, y mantenida a la estufa a 36°.

	DIAS							
	5	10	15	20	25	30	35	40
Suero fisiológico	200	160	150	150	150	150	125	125
Caldo ordinario	200	160	150	150	150	125	125	100
Agua de carne	50	1	0	0	0			
Agua peptonada	200	160	150	150	150	125	100	150

Establecido el medio más conveniente, se añade a cada tubo una cantidad de antibiótico arbitraria, que ha oscilado siempre en un poder inhibitorio en medio líquido, equivalente del 1/1000 al 1/10000. Conjuntamente con esta técnica hemos empleado el método de la zona en placa por medio de discos de papel de filtro.

Y así, a medida que los títulos de inhibición o actividad del antibiótico tendían a bajar de la mínima del 1/1000, se añadían nuevas cantidades de antibiótico en los tubos que contenían el fagus y en sus testigos respectivos, a fin de que durante todo el tiempo de nuestras experiencias las mezclas fagus y antibióticos tuvieran de este último la cantidad que creemos suficiente para nuestras pruebas de resistencia.

PENICILINA Y FAGUS

Las investigaciones de esta segunda etapa se han realizado con penicilina Schenley, en muestras corrientes del mercado.

Las diluciones se practican en tubos de caldo ordinario y en filtrados de los diversos fagus, obtenidos también en cultivos del mismo caldo.

En ambos casos su pH está ± 7,5.

Los cuadros adjuntos resumen los resultados obtenidos.

CUADRO 4

PENICILINA + FAGUS ESTAFIL.

Contenido tubos	días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}
Penicilina	10	+	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicil. + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	20	+	+	+	C	C	C	C	C	C
Penicil. + fagus		+	+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	30	+	+	+	C	C	C	C	C	C
Penicil. + fagus		+	+	+		C	C	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 5

PENICILINA + FAGUS EBERTH.

Contenido tubos	días contacto	Diluciones 10^{1}	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}	10^{7}	10^{8}	10^{9}
Penicilina	10	+	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicil. + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus Eberth.... ...		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	20	+	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicil. + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	30	+	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicil. + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+	C

CUADRO 6

PENICILINA + FAGUS SALMONELLA.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Penicilina	10	+	+	+	+	C	C	C	C
Penicilina + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Penicilina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicilina + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	30	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicilina + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

Nota.—+ = ausencia cultivo. C = cultivo normal.

CUADRO 7

PENICILINA + FAGUS COLI.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Penicilina	10	+	+	+	+	C	C	C	C
Penicilina + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicilina + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Penicilina	30	+	+	+	C	C	C	C	C
Penicilina + fagus ...		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

Por los cuadros que insertamos se ve claramente que los fagus no parecen tener la más mínima sensibilidad para la penicilina. De estos resultados, y de otros que siguen, parece desprenderse que el fagus estafilo no es tan resistente como los restantes. Sin embargo, es ésta una cuestión de la cual más adelante de este trabajo tendremos ocasión de examinar y, en definitiva, aclarar.

Visto que los fagus, aparentemente, no sufren alteración alguna en su contacto con la penicilina, hemos querido ver su posible interferencia en la acción lítica, con el deseo de comprobar los hechos descritos por Himmelweit, Faguet y Nicolle y Mac Neal y colaboradores.

Preparamos una fuerte dilución de penicilina, activa hasta el 1/500.000.

Una serie de tubos conteniendo penicilina desde el 1/100 hasta el 1/1.000.000, son inoculados sucesivamente con 0,5 c. c. de cultivo en caldo de estafilococo de dieciocho horas y con 0,1 de un filtrado de fagus.

Otra serie igual es inoculada con 0,1 de cultivo de estafilo.

La primera serie, a 0,5 de cultivo, presenta la onda característica de los cultivos, perfectamente visible sin aparatos de óptica especiales. A las ocho horas de permanencia en la estufa a 38° la lisis de la primera serie es total en todos los tubos, en tanto que en la segunda serie aparece cultivo a partir del tubo correspondiente a la disolución del 1/600.000.

Se han puesto varios tubos testigos de fagus sin antibiótico y de caldo idéntico sembrado también sin antibiótico, con resultados normales.

En nuestra experiencia, pues, el antibiótico no ha interferido, a las ocho horas, la actividad del fagus.

Una experiencia análoga, pero inoculando el antibiótico unas seis horas antes del fagus, ha perturbado claramente la lisis, constatación que coincide, en términos generales, con lo observado por los diversos investigadores que han trabajado en el mismo sentido.

De todas estas investigaciones se puede deducir lógicamente que la penicilina ejerce su influencia perturbadora sobre la vida o el metabolismo de los microbios sensibles, especialmente en su fase de crecimiento.

En tanto que el fagus se muestra indiferente a la acción del antibiótico.

CLOROFENICINA Y FAGUS

En todos nuestros trabajos hemos utilizado la clorofenicina Llorente, producto sintético con las mismas características de la cloromicetina.

Las soluciones del antibiótico se han realizado en caliente, sin que esta operación disminuya su actividad inhibidora sobre los gérmenes sensibles.

Las soluciones se han normalizado a una potencia del 1/10.000 en medio líquido, y frente a los gérmenes que podemos considerar específicos para este antibiótico (Eberth-Coli-Salmonella).

Las mismas diluciones, por lo regular, han presentado una potencia inferior al estafilococo, hecho que nos ha parecido perfectamente normal.

Las soluciones, siempre en caldo ordinario, han mantenido su actividad inicial durante unos quince días. En las series de experimentación, con tendencia a bajas de titulo, han sido nuevamente inoculadas de antibiótico con el fin de restaurar su potencia inicial.

En los cuadros siguientes se puede ver el comportamiento de los fagus.

CUADRO 8

CLOROFENICINA + FAGUS ESTÁFIL.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Clorofenicina	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	15	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	20	+	+	C	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	C	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 9

CLOROFENICINA + FAGUS EBERTH.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Clorofenicina	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	35	+	+	C	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 10

CLOROFENICINA + FAGUS COLI.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Clorofenicina	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	25	+	+	C	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 11

CLOROFENICINA + FAGUS SALMONELLA.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Clorofenicina	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Clorofenicina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Clorofenicina	25	+	+	+	C	C	C	C	C
Clorofenicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

En esta serie de experiencias puede verse con claridad que los fagus se muestran insensibles a este antibiótico.

Por cierto que de ellas se desprende una conclusión que no concuerda de una manera precisa con el punto de vista insinuado por otros investigadores (Faguet y Adlinger), los cuales sospechan que este antibiótico «actuaría sobre el fagus ya liberado de la célula microbiana».

Es evidente que las condiciones experimentales de los citados investigadores no coinciden con las nuestras. Ellos trabajan en un número de horas reducido. Concretamente el tiempo que dura la lisis, mientras que nosotros

tenemos al fagus en contacto con el antibiótico durante varias semanas, con valoraciones intermedias.

Pero destaca un hecho claro y sencillo. Nuestros fagus, liberados de las células microbianas, no parecen sufrir trastorno alguno en su mezcla permanente con el antibiótico. Es decir, la íntima convivencia con la clorofenicina no hace sospechar trastorno aparente para el fagus.

TERRAMICINA Y FAGUS

Hemos utilizado las cápsulas de terramicina clorhidrato (Pfizer) del mercado.

Su índice de solubilidad es amplio, pero se mantiene poco tiempo activa, tomando los tubos un color parduzco que aumenta con el tiempo. La adición periódica de antibiótico nos ha permitido conservar su actividad inhibidora.

Para esta substancia hemos realizado valoraciones periódicas de su potencia inhibidora frente a un estafilococo en placas de agar y por el método del disco de papel.

Hemos procurado que los tubos con fagus contuvieran permanentemente una cantidad de antibiótico activo capaz de dar un halo de inhibición con un mínimo de 30 mm. de diámetro.

Con este antibiótico hemos observado que los halos de inhibición en placa son superiores a las proporciones que muestran los tubos en caldo, con relación a lo que vemos con la penicilina, por ejemplo.

CUADRO 12
TERRAMICINA + FAGUS EBERTH.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Terramicina	10	+	+	+	+	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	–	–	–	–
Terramicina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Terramicina	30	+	+	C	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 13

TERRAMICINA + FAGUS SALMONELLA.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Terramicina	10	+	+	+	+	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Terramicina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Terramicina	40	+	+	C	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 14

TERRAMICINA + FAGUS ESTÁFIL.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Terramicina	8	+	+	+	+	C	C	C	C
Terramicina — fagus		+	+	+	+	+	+	C	C
Terramicina	15	+	+	+	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Terramicina	20	+	+	C	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	C	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 15

TERRAMICINA + FAGUS COLI.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Terramicina	10	+	+	+	+	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Terramicina	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Terramicina	30	+	+	C	C	C	C	C	C
Terramicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

ESTREPTOMICINA Y FAGUS

Se ha utilizado indistintamente dihidro y sulfato de estreptomicina Schenley.

No presenta dificultad alguna su disolución. Nuestras diluciones se han limitado al 1/1.000 de actividad frente al Coli, germen que hemos utilizado normalmente para la valoración de su poder inhibitorio.

Se ha seguido durante todo el tiempo de la experiencia la permanencia de su acción mediante el método de las diluciones en tubo y la zona de inhibición en agar con discos.

Por ser el antibiótico con el cual hemos obtenido cifras más constantes de su conservación activa, no ha precisado añadir nuevas dosis de antibiótico durante el transcurso de las experiencias, pues sensiblemente se ha mantenido con la misma fuerza.

Así, al comienzo de las pruebas, su poder inhibidor en medio líquido alcanzaba el 1/1.000 y la zona en placa era de 32 mm.

En las valoraciones interpoladas dió estas cifras, que persistieron, con escasa diferencia, durante treinta y cinco días.

Solución pura	32 mm.
al 1/10	25 »
al 1/100	21 »
al 1/1.000	14 »

Además de nuestros estudios sistemáticos sobre la persistencia de los fagus en presencia de la estreptomicina, hemos querido ver qué pasaba con los gérmenes supervivientes a la acción de los antibióticos.

Practicando diluciones interpoladas entre el 1/1.000 y el 1/10.000, hemos visto que en algunos tubos aparecían señales evidentes de germinación después de dos, tres, cuatro y cinco días de permanencia en la estufa.

Estos cultivos, que ya podemos considerar estreptomicina-resistentes, y que estudios posteriores nos demostraron la certeza de este criterio al comprobar que estos gérmenes se cultivaban fácilmente en soluciones de estreptomicina, normalmente inhibidoras para los gérmenes corrientes.

Partiendo, pues, de estos cultivos supervivientes y de sus resiembras, se

ha hecho actuar al fagus respectivo, y todas las pruebas demostraron que continuaban con su sensibilidad lisógena.

Estos resultados hemos visto que han sido obtenidos también por Edlinger.

Este investigador, en colaboración con Faguet, afirman haber observado un fenómeno curioso en su estudio del mecanismo de la lisis en presencia de este antibiótico.

Comprueban que la adición de estreptomicina en la fase de lisis acelera ésta. Hacen su observación por medio del microbiofotómetro. El hecho de no disponer de este aparato nos ha privado de comprobar tan interesante fenómeno, que se aparta sensiblemente de la opinión que se tiene de esta actividad fágica.

Hemos visto también, como hacen observar diversos investigadores, que la acción de la estreptomicina, actuando con anterioridad al fagus sobre los gérmenes sensibles, detiene o anula la función lítica en proporción a la dosis del antibiótico empleado.

Resúmenes de nuestras experiencias:

CUADRO 16

ESTREPTOMICINA + FAGUS ESTAFILO.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Estreptomicina...	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	15	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 17
Estreptomicina + fagus Eberth.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Estreptomicina...	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	25	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 18
Estreptomicina + fagus salmonella.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Estreptomicina...	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	25	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	

CUADRO 19
Estreptomicina + fagus coli.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Estreptomicina...	12	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	20	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Estreptomicina...	36	+	+	+	C	C	C	C	C
Estreptomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

Jones, que ha realizado los estudios más parecidos a los nuestros, dice que la estreptomicina ejerce una actividad antifagus directa.

Como puede verse por los resultados que esquematizamos en los cuadros que anteceden, no parece fácil deducir una conclusión demasiado idónea. Más adelante insistiremos sobre este punto de positivo interés para nuestra tesis de trabajo.

AUREOMICINA Y FAGUS

Las dificultades, no siempre superables, de obtener solventes adecuados para la aureomicina en polvo, por otra parte, prácticamente la única asequible en nuestro mercado, no nos permitieron un trabajo regular con este antibiótico.

Sin embargo, en estos últimos tiempos, nos ha sido fácil disponer de un ejemplar de Aureomicina Lederle, soluble para uso intravenoso, junto con su solvente especial la isoleucina.

De todas formas, la necesidad de disponer los medios de cultivo a un pH bajo para mantener la estabilidad del antibiótico, no son factores coadyuvantes a una fácil investigación

A pesar de todos estos inconvenientes, hemos podido realizar satisfactoriamente la mayor parte de nuestros estudios.

En primer término, hemos podido comprobar que el envejecimiento de las soluciones hace perder considerablemente su actividad inhibidora.

Asímismo, nos ha sido posible comprobar su alto poder, que si bien no hemos conseguido las cifras obtenidas por M. Aitoff, llegaron para el estafilococo más allá de 1/2.000.000.

Como podrá verse por los cuadros que siguen, hemos procurado mantener durante diez días una actividad superior al 1/1.000, que a los quince días ha descendido al 1/100.

CUADRO 20

AUREOMICINA + FAGUS ESTAFILO.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Aureomicina	5	+	+	+	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus	+ +	+	+			+	C	C	C
Aureomicina	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Aureomicina	15		+	C	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	C	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	C	C	C	C

CUADRO 21

AUREOMICINA + FAGUS SALMONELLA.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Aureomicina	5	+	+	+	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Aureomicina	10	+	+	C	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	C
Aureomicina	15	+	+	C	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	C	C	C
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	C

CUADRO 22

AUREOMICINA + FAGUS COLI.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Aureomicina	5	+	+	+	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Aureomicina	10	+	+	C	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Aureomicina	15	+	+	C	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO 23
AUREOMICINA + FAGUS EBERTH.

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Aureomicina	5	+	+	+	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Aureomicina	10	+	+	+	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Aureomicina	15	+	+	C	C	C	C	C	C
Aureomicina + fagus		+	+	+	+	+	+	+	+
Fagus		+	+	+	+	+	+	+	+

Después de realizadas las pruebas conducentes a la demostración de nuestra tesis fundamental, hemos dedicado unas experiencias a comprobar la acción de la aureomicina durante la lisis.

La mezcla de aureomicina a tubos conteniendo fagus + gérmenes sensibles se muestra perturbadora de la lisis a dosis superiores a 3 microgramos, cifra ligeramente superior a la obtenida por Faguet y Edlinger, que encuentran detención de lisis a partir de 2,5 microgramos.

NOTAS SUPLEMENTARIAS

Los cuadros que acabamos de describir ofrecen, indiscutiblemente, razones optimistas para creer que los fagus, en general, son insensibles a los antibióticos que hemos manejado.

Con todo, una observación minuciosa de los mismos pone en evidencia que hay un fagus, el estafilo, que pierde sensiblemente una gran parte de su actividad.

Durante nuestras experiencias procuramos aclarar el fenómeno anormal de este fagus, ya que todos los restantes (excepto el salmonela en alguna rara ocasión) se han comportado de una manera ciertamente regular.

Admitir los resultados descritos sin discusión supone aceptar que los fagus salmonela, coli y Eberth son totalmente insensibles a los antibióticos, mientras que el estafilococo sería parcialmente atacado por éstos.

Con esta preocupación, hemos buscado informaciones bibliográficas, y en un trabajo de Wahl y Blum Emerique vemos una posibilidad de explicarnos el resultado que obtenemos con nuestros fagus estafilo.

Estos autores demuestran que la oxidación destruye fuertemente la cantidad de fagus presentes en un medio líquido. Como consecuencia de sus investigaciones aconsejan guardar los lisados en tubos estrechos, muy llenos y cerrados a la lámpara, o bien añadirles una cierta cantidad de hidrosulfito sódico para situar el potencial de óxido-reducción por debajo de —300 m. V. Han utilizado únicamente un fagus S h i g e l l a .

Esta observación, en principio, aclararía los hechos que motivan nuestras dudas, ya que el control de la actividad de los fagus en comparación a la que presentan estos mismos sometidos a los antibióticos, se ha realizado siempre a partir de filtrados que guardamos habitualmente en inyectables de 2 c c. cerrados, naturalmente, a la llama. Por tanto, las condiciones de ambos factores no son las mismas.

Efectivamente, unas experiencias dedicadas a comprobar este fenómeno, han sido concluyentes.

Se han utilizado el fagus estafilo, que claramente se inactiva, y el salmonella, que también en alguna ocasión ha mostrado cierta irregularidad.

Tubos conteniendo los fagus puros, junto con otros a los que se les añade antibiótico, son colocados a la estufa y valarados periódicamente. Los tubos son de 10 mm. de diámetro, y el volumen total, 10 c. c.

Por el cuadro adjunto puede verse el resultado obtenido:

CUADRO 24

Contenido tubos	Días contacto	Diluciones 10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
F. estafilo inicial		L	L	L	L	L	L	L	L
F. salmonela inicial		L	L	L	L	L	L	L	L
F estafilo + aureomic.	5	L	L	L	L	L	L	C	C
F. estafilo		L	L	L	L	L	L	C	C
F. salmonela + penic.	5								
F. salmonela...		L	L	L	L	L	L	L	C
F. estafilo + aureom.	10	L	L	L	L	C	C	C	C
F. estafilo		L	L	L	L	C	C	C	C
F salmonela + penic.	10	L	L	L	L	L	L	L	C
F. salmonela		L	L	L	L	L	L	L	C

L = lisis. C = cultivo.

Es evidente que con esta prueba queda demostrado que la pérdida de potencia del fagus estafilo no es causada precisamente por el antibiótico, ya que el tubo sin él se comporta igual. El fagus salmonela no ha sufrido modificaciones importantes.

En consecuencia, no es aventurado admitir que tampoco el fagus estafilo sufre trastornos apreciables en su convivencia con el antibiótico.

La experiencia descrita en el cuadro anterior no ha sido única. Realizada con los antibióticos a nuestra disposición nos ha proporcionado resultados muy parecidos.

Ahora bien, ¿con esta prueba podemos darnos por completamente satisfechos sobre la influencia de los factores de óxido-reducción?

Es posible que el hecho sea absolutamente cierto, pero no cabe la menor duda que no todos los fagus presentan la misma sensibilidad a las perturbaciones de la oxidación. El resto de los fagus que hemos manejado no han mostrado señales evidentes de pérdida de actividad, con todo y estar sometidos a idénticas condiciones que el fagus estafilo, motivo de esta disgresión.

Es obvio recordar que existen muchas variedades de fagus con características diferentes, especialmente en cuanto a su sensibilidad frente a los factores adversos de orden físico o químico.

Se deduce de todo esto que nuestras experiencias, para tener un valor definitivo, debieran realizarse con un número mayor de razas o especies de fagus, para cerciorarse de si los resultados obtenidos por nosotros son pura casualidad inherente a las cepas que poseemos o bien es justo generalizarlos a todos o la gran mayoría de fagus hasta hoy conocidos.

Otro aspecto del problema que nos importa aclarar es el relacionado con las posibles modificaciones que hayan podido sufrir los fagus que han vivido más de un mes en contacto con los antibióticos.

Desde el primer momento de anotar los resultados que obteníamos, nos asaltó la idea de que acaso la lisis, que aparentemente parece normal, no lo era en realidad.

Para convencernos hemos obtenido filtrados de una manera sistemática de todos los fagus que han actuado en presencia de antibióticos y que han estado en su contacto prolongado, y se han sometido a diversos estudios de especificidad, virulencia y gama de su acción sobre las cepas microbianas de que dispone nuestro archivo.

En estas investigaciones suplementarias nos hemos podido convencer

sobradamente que no han perdido ninguna de sus cualidades primitivas.

Es más, concretamente con el fagus Eberth hemos observado que su gama de actividad se ha extendido sobre cepas que anteriormente se habían mostrado fagus-resistente.

No hemos insistido en este camino porque ya nos parecía suficiente para la demostración de nuestra tesis de trabajo. Con todo es una cuestión planteada por algún investigador (Nicolle-Faguet), que desde el punto de vista de la biología de los fagus y de su utilización terapéutica encierra un interés no desdeñable. Esta posible potencialización podría tener una indudable importancia teórico-práctica.

ANALISIS CRITICO

Para nosotros, ateniéndonos a los resultados obtenidos, los antibióticos no ejercen la menor influencia perturbadora sobre la vida y actividades posteriores de los fagus. Es decir, les respetan íntegramente.

Mas no estamos del todo satisfechos. Quisiéramos ver confirmados íntegramente nuestros resultados para tener la absoluta seguridad de que pisamos terreno firme.

Y la poca bibliografía que conocemos no coinccide del todo con los resultados que hemos visto.

Así, Jones, de una manera un poco ambigua, dice en su trabajo: «La estreptomicina parece inactivar las células microbianas, por cuyo motivo parece que el fagus puede ser inhibido por llegar a ser absorbido sobre células inactivas, o ser inactivado por productos de lisis de las células, multiplicándose las partículas residuales en proporción al efecto producido por la estreptomicina.»

Esta opinión está fundamentada por experiencias que no son exactamente las nuestras.

Este investigador mezcla antibiótico, fagus y gérmenes y los guarda en la estufa durante una noche y luego valora la cantidad de fagus en condiciones de lisis que queda en el líquido centrifugado.

En primer término creemos necesario advertir que Jones hizo sus investigaciones en 1945, y nosotros hemos realizado las nuestras, con estreptomicina, en 1951. Sospechamos que la técnica de obtención de la estreptomicina en este lapso de tiempo ha mejorado considerablemente y, por

tanto, no es aventurado suponer que hoy disponemos de un antibiótico más puro, desprovisto de posibles substancias que pudieran atacar al fagus. El caso de las penicilinas es aleccionador.

Pero supongamos que este razonamiento esté desprovisto de base. El hecho de poner juntos los tres elementos en juego supone que la estreptomicina puede haber matado a gran número de gérmenes, en cuyo caso los fagus pueden ser adsorbidos por cadáveres microbianos y, fijos en él, faltar en el líquido por razones que no pueden achacarse directamente al antibiótico. La fijación de los fagus por gérmenes muertos está demostrada por varios investigadores.

Por otra parte, esta sospecha se hace más evidente si analizamos los resultados del autor. Cuando la dosis de estrepto es grande, apenas recupera fagus, mientras que cuando es pequeña, obtiene al día siguiente el 86 por 100.

A mayor número de cadáveres, mayor pérdida.

Edlinger y Faguet, trabajando con cloromicetina y fagus estafilo, obtienen resultados que nosotros hemos reproducido, y que se ajustan exactamente.

Hacemos nuestra la primera parte de sus conclusiones, que dicen así: «Las observaciones al microbiofotómetro y las titulaciones del fagus en cultivos de estafilococos, a los cuales se agrega distintas dosis de cloromicetina, antes o después de la introducción del fagus de Twort, muestran que la intervención del fagus al comienzo de la lisis, detiene a ésta; las dosis débiles y medianas de cloromicetina permiten la lisis, sin son introducidas durante la lisis, mientras que una fuerte dosis puede detener la lisis bacteriana.

Hasta aquí nada tenemos que objetar. Pero a continuación dicen: «Sin poseer una acción anti-fagus directa, sobre un lisado fágico, la cloromicetina disminuye siempre el título fágico de un cultivo bacteriano infectado con fagus. Se emite la hipótesis de una acción del antibiótico contra el fagus en multiplicación, sobre o dentro de la célula bacteriana». Y en el texto de su comunicación explanan su opinión de que la cloromicetina actúa sobre el fagus ya libre de la célula microbiana.

En el texto son más categóricos, y en las conclusiones ya distinguen y condicionan. De todas formas admiten que la cloromicetina puede dañar directamente al fagus.

En esta apreciación no podemos seguir a los autores que comentamos.

Nuestras experiencias son claramente demostrativas de la inocuidad de los antibióticos en su contacto directo.

Estas son las discrepancias que conocemos de los resultados obtenidos por nosotros.

Desde luego no son absolutamente antitéticas. Más bien son matices que se derivan de los distintos métodos seguidos en el trabajo experimental, y que posteriores investigaciones acaso pongan de acuerdo.

Y ya que estamos en plan de discusión, no podemos rehuir el deseo de formular nuestro criterio en un aspecto casi doctrinal de la pretendida interferencia de los antibióticos en el fenómeno de la lisis bacteriofágica.

Todos los investigadores que han experimentado en este campo coinciden en admitir que las grandes dosis de antibióticos interfieren la lisis.

También parece cierto que la presencia anterior del antibiótico, actuando sobre los gérmenes, disminuye considerablemente las posibilidades de lisis. Nuestros ensayos en este sentido, que no insertamos por su escasa originalidad, nos llevan también a parecidas conclusiones.

Ahora bien, este fenómeno ha sido interpretado por algunos autores de una manera que se nos antoja excesivamente heterodoxa, aplicado a lo que ocurre con las sulfamidas.

Pero antes hagamos una síntesis del fenómeno. Si ponemos en contacto un antibiótico o un bacteriostático (sulfamidas) con gérmenes y su fagus específico vemos que, según los tiempos y dosis de esta mezcla, las cosas transcurren de diversas maneras:

a) Si el antibiótico o la sulfamida actúan antes sobre el germen, la lisis es interferida.

b) Si el antibiótico o la sulfamida actúan al mismo tiempo que el fagus, pero en dosis discreta, la lisis es solamente retardada.

c) Si el antibiótico o la sulfamida actúan al mismo tiempo, pero en dosis grande, la lisis se interfiere.

d) Si el antibiótico o la sulfamida actúan cuando la lisis comenzó, ésta sigue su curso normal.

Con estos hechos, pensamos que no es aventurado suponer que lo que ocurre es lo siguiente:

El fagus, para realizar su función lísica, requiere unos gérmenes sanos, con su metabolismo sin alteración importante. Cuando los antibióticos o los bacteriostáticos han conseguido su característica actividad (más o menos hipotética), es decir, que han modificado el metabolismo microbiano,

el fagus actúa con retraso o deja totalmente de funcionar en razón directa del trastorno sufrido por los gérmenes.

Por tanto el fagus, ente vivo, requiere, para ejercitar su parasitismo, unos gérmenes normales. De otra forma queda prisionero de unos huéspedes enfermos que no supo identificar o rehuye toda actividad.

Si la realidad es tal como nosotros la imaginamos, a base de los datos que hoy conocemos, hemos de convenir que la acción nefasta de los antibióticos y bacteriostáticos sobre los fagus no es directa, sino indirecta, alterando a los microbios alimento de ellos. Nuestras investigaciones pretenden ser, por otra parte, una prueba demostrativa de esta interpretación.

Pero hay más, Wahl, Nitti y Faguet, por una parte, y Faguet y Nicolle, por otra, han observado que gérmenes tocados por la sulfamida y por la penicilina, y en consecuencia inaptos para ser presa de los fagus, se hacen sensibles a la acción lísica de éstos, tratándoles con para-amino-benzoico o con penicinilasa, es decir, con substancias que restablecen el metabolismo normal de los microbios al neutralizar los efectos conseguidos con la sulfamida y la penicilina.

Todo esto, a nuestro entender, es claro y explicable, y por ello nos sorprende la declaración de los tres primeros investigadores al afirmar: «Nuestros resultados parecen más favorables a una diastasa de reproducción autocatalítica que a la hipótesis de un parásito del microbio».

«Por lo mismo estaría de acuerdo con la concepción de Wollmann (autolisis heredo-contagiosa), según la cual el fagus actuaría a manera de gene, reproduciéndose en función de la división celular».

Después de tantos años de discusiones sobre la realidad del fagus, y ahora que el microscopio electrónico parecía haber acabado las disputas dando la razón a D'Hèrelle, surge esta nueva duda.

Para nosotros, el fenómeno es difícil de atribuirlo a la actividad del gene, porque sería preciso admitir que este teórico elemento del cromosoma se puede obtener aislado, cosa que sospechamos todavía no se ha logrado.

Además, creemos que la interpretación que hemos esquematizado es más lógica y concuerda completamente con los hechos y con las demostraciones infinitas que poseemos sobre la vida del fagus.

Sin asustarnos de las ideas revolucionarias, estimamos más acertado acogernos a los criterios racionales y lógicos, cuando merced a ellos nos es dable dar explicación convincente a los fenómenos que tenemos que

interpretar, dispuestos, naturalmente, a admitir una posible rectificación, siempre que nuevos hechos nos demuestren con claridad el error de nuestro criterio actual.

CONCLUSIONES

I.—A base de los elementos de nuestras investigaciones, y a juzgar por los resultados obtenidos, los antibióticos no ejercen acción directa sobre los fagus que permita suponer que sus actividades han sufrido trastornos aparentes.

II.—Los antibióticos modifican el desarrollo de los fagus, cuando han tenido tiempo de actuar sobre los gérmenes sensibles, modificando su metabolismo.

III.—Esta modificación se refiere solamente en la interferencia que ejercen al inhibir la reproducción microbiana y consecuentemente la reproducción del fagus.

IV.—Sin tener pruebas abundantes y claramente demostrativas, sospechamos que, en determinadas circunstancias, los antibióticos pueden potencializar la acción de los fagus.

BIBLIOGRAFIA

E. EDLINGER.—1949. Ann. Inst. Pasteur. 76, pág. 396.

E. EDLINGER.—1949. Ann. Inst. Pasteur. 76, pág. 559.

M. FAGUET y E. EDLINGER.—Ann. Inst. Pasteur. 77, pág. 204.

E. EDLINGER y M. FAGUET.—1950. Ann. Inst. Pasteur. 78, pág. 144.

E. EDLINGER.—1950. Ann. Inst. Pasteur. 79, pág. 282.

M. FAGUET y E. EDLINGER.—1950. Ann. Inst. Pasteur. 79, pág. 472.

E. EDLINGUER y M. FAGUET.—1959. Ann. Inst. Pasteur. 79, pág. 436.

M. FAGUET y E. EDLINGER.—1951. Ann. Inst. Pasteur. 80, pág. 281.

M. FAGUET y P. NICOLLE.—1947. Ann. Inst. Pasteur., pág. 1.150.

F. HIMMELWEIT.—1945. Lancet. 249-104.

WARD, J. MAC NEAL, LAISE FILAK y ANNE BLEVIUS.—1946. The Journ of Lab. and Cli. Med. 31-9.

P. NICOLLE y M. FAGUER.—1946. Ann. Inst. Pasteur.

E. EDLINGER.—1951. Ann. Inst. Pasteur. 81, pág. 514.

E. EDLINGER.—1950. Ann. Inst. Pasteur. 78, pág. 417.

MARG. AITOFF.—1950. Ann. Inst. Pasteur. 79, pág. 222.

R. WAHL y L. BLUM EMERIQUE. —1946. Ann. Inst. Pasteur. 72, página 959.

WAHL-NITTI-FAGUET.—1946. Ann. Inst. Pasteur. 72, pág. 290.

DORIS JONES.—1945. Jour. of Bact. 50, pág. 341.

LANDBOUWPROEFSTATION EN BODEMKUNDIG INSTITUUT. GRONINGEN
MICROBIOLOGIE AFDELING

PLANTAS, MICROBIOS Y MATERIA ORGANICA

I. LA RIZOSFERA

por
F. C. Gerretsen.

El conocimiento de las relaciones más íntimas entre plantas y microbios y de sus mutuas influencias, es indispensable para comprender la asimilación de los diferentes nutrientes del suelo por las plantas.

Es un hecho real que en este íntimo contacto juega un papel muy importante la materia orgánica, ya sea excretada por las plantas o por los microbios; también nosotros podemos influir en la situación añadiendo materia orgánica al suelo.

La interacción de plantas y microbios tiene lugar primeramente en las inmediaciones de la raíz, en la llamada r i z o s f e r a .

En la literatura de los últimos diez a veinte años (Katznelson c. s. 1948) se encuentra un gran número de investigaciones sobre la rizosfera, habiéndose probado que tienen lugar en dicha zona importantes procesos que influyen de algún modo sobre la vida de la planta.

Muy relacionado con este asunto está el problema del a n t a g o n i s m o , la influencia perjudicial que pueden ejercer entre sí diferentes microbios del suelo, bacterias, hongos y actinomicetos, y cuya aplicación práctica se ha traducido en una lucha muy eficaz contra diferentes enfermedades de las plantas que se originan en el suelo. En bastantes casos ha sido posible reducir el daño causado por ciertos parásitos de las plantas y, a veces, hasta anularlo prácticamente, por el simple procedimiento de aplicar estiércol o abonos verdes, lo que provoca el crecimiento de microorganismos antagonistas del hongo parásito. Este asunto será objeto de una próxima publicación.

Nos ocuparemos primeramente de la r i z o s f e r a . La rizosfera abarca una estrecha zona alrededor de la raíz, influyendo de tal modo sobre la microflora, que el número total de microorganismos aumenta extraordinariamente, al mismo tiempo que, en general, se produce un cambio en los diversos grupos que originalmente se encontraban en el suelo.

En la literatura reciente existe la tendencia a establecer una distinción entre la rizosfera propiamente dicha y la parte externa de la raíz con sus partículas adherentes, a la que se llama r i z o p l a n o (Clark 1949); esto parece lógico, porque precisamente alrededor de la raíz la actividad de las bacterias es de 10 a 100 veces mayor que la de las que se encuentran en el suelo más alejado. Starkey, en América, fué el primero que hizo investigaciones extensas sobre el número de los diversos microbios de la rizosfera, habiendo contribuído grandemente sus trabajos a nuestro actual conocimiento sobre la materia. Este investigador Starkey (1938) y Linford (1942) han publicado una serie de fotografías excelentes de colonias de bacterias en el rizoplano de diferentes plantas.

Fig. 1.

La influencia que ejerce la rizosfera sobre los microorganismos está muy relacionada con la especie de la planta de que se trata; el número de microorganismos en la rizosfera de las raíces de la B r a s s i c a r a p a se encontró que era mucho mayor que en el caso de la patata. Parece que existe un máximo en el período de crecimiento óptimo de

las plantas, y las plantas bienales ejercen una influencia más pronunciada sobre la microflora que las plantas anuales.

La causa del estímulo de crecimiento de los microorganismos es la excreción de substancias orgánicas y la segregación de las células de la caperuza y pelos radiculares.

A lo largo del camino recorrido por las raíces en el suelo se encuentran los residuos orgánicos de la vida de la planta. La excreción de glucosa por la raíces del maíz ha sido observada por Mazé ya en el año 1911, y desde entonces muy diversos compuestos se han descubierto en análogas condiciones. Virtanen (1939) encontró asparragina y betalanina en la excreción radicular de las plantas leguminosas y observó que cuando las plantas leguminosas crecían junto con las no leguminosas, parte del nitrógeno quitado por las arterias nodulares o radiculares era excretado por las leguminosas y utilizado por las no leguminosas. El mismo Virtanen nota que dos plantas de guisantes son capaces de alimentar a una de avena.

En relación con la siembra mezclada de hierbas y trébol en los prados, este problema es muy interesante, pues hay que preguntarse si las plantas no leguminosas se aprovecharán de la presencia de las leguminosas.

Gran número de autores en diferentes países han intentado repetir los experimentos de Virtanen, pero pocos han obtenido los mismos resultados.

Especialmente Wilson (1940), de la Estación Experimental de Wisconsin, ha investigado el problema intensamente. No obtuvo aumento de peso de las no leguminosas en presencia de las leguminosas. Como Virtanen es un investigador solvente, de reputación mundial, decidió Wilson ir a Helsinki, en Finlandia, y repetir las experiencias bajo la supervisión directa de Virtanen.

Esta vez el resultado fué positivo, y Wilson se llevó semilla y arena de Finlandia a América para repetir de nuevo los experimentos. El resultado fué negativo. La única diferencia residía en el clima, especialmente en las horas de intensa luz solar, las que eran más frecuentes en Madison que en Helsinki.

Finalmente, Wilson pudo probar que la excreción de substancias nitrogenadas por las leguminosas dependía grandemente de la síntesis de carbohidratos por la planta. Cuando la planta contiene abundantes carbohidratos, todo el nitrógeno fijado por los nódulos radiculares se transforma en proteína. Cuando existe escasez de carbohidratos se presenta

un sobrante de nitrógeno, siendo excretado por las raíces, y la luz solar, escasa en Helsinki y abundante, en cambio, en Madison, puede ser la causa principal de la discrepancia de los resultados. Wilson logró reproducir los experimentos de Virtanen cultivando las plantas en la sombra, reduciendo por este medio la asimilación de anhídrido carbónico.

El estudio de la excreción de compuestos orgánicos por las raíces sólo es posible en la realidad cuando las plantas se mantienen estériles. Además, no es posible afirmar la existencia de algún efecto de los microorganismos de la rizosfera sobre la planta, a menos que puedan compararse los resultados obtenidos en un suelo normal infectado con los del suelo estéril.

Muy pocos investigadores han intentado hacer esto, lo que es lamentable, porque es el único camino para obtener resultados válidos. El autor (1935) ha desarrollado un método que no es muy difícil de aplicar y que explico a continuación:

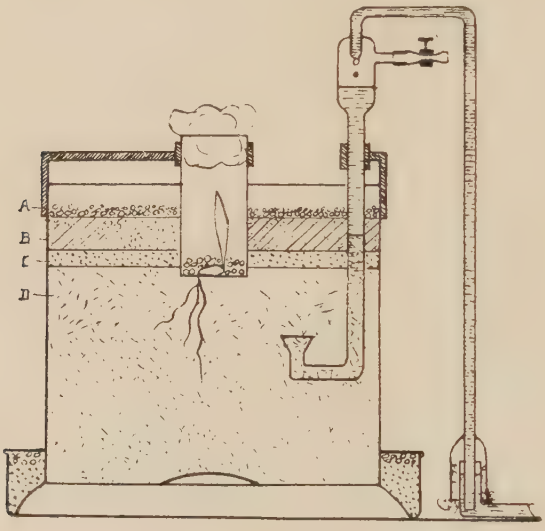


Fig. 2.

La arena del cultivo tiene una capa superior de arena blanca de cuarzo, cuyos granos están cubiertos individualmente con una delgada capa de parafina, lo que rompe el contacto capilar con la arena húmeda inferior, impidiendo que ascienda la humedad (fig. 2).

La arena parafinada se prepara por el método siguiente: a un kilogramo de arena de cuarzo blanco se añade 100 c. c. de una solución de 1 por 100 de parafina. Es posible esterilizar esta arena parafinada; cuando los granos se adhieren un poco, se los puede desligar con una capa de serrín de corcho, la que se mezcla con una pequeña cantidad de plata precipitada y de cobre precipitado. Estos metales, a causa de su actividad, llamada oligodinámica, impiden el desarrollo de las bacterias y de los hongos a través de estas capas protectoras (fig. 3).

Por otro lado, a causa de la estructura granular de este material, la planta crece muy bien a través de él. Para comprimir el material se cubre con un poco de grava. El riego de los cultivos estériles se hace por medio de un dispositivo automático, que reduce la infección a un mínimo.

Se compone de un tubo de vidrio, lleno con arena hasta su mitad, y la otra mitad, con agua y aire.

A causa del contacto capilar entre la arena de la maceta y la del tubo, el agua del tubo pasa a la maceta, reemplazando el agua empleada para la planta.

Como el espacio con aire sobre el nivel del agua está cerrado, se produce un pequeño vacío y pasa agua del depósito superior, rellenando la parte inferior del tubo.

La gran ventaja de este método reside en la facilidad para conservar la esterilidad del cultivo, asegurando igualmente la constancia del contenido de agua de la arena, aunque sea durante algunos meses.

Los resultados de algunos experimentos que el autor hizo con ayuda de estos cultivos estériles muestran el efecto de los microorganismos de la rizosfera sobre la disponibilidad para las plantas de los fosfatos insolubles. (Gerretsen 1948). Se conoce muy poco acerca del modo cómo son absorbidos por la planta los fosfatos, difícilmente solubles.

Se supone que el agente principal es el CO_2 excretado por las raíces; por otro lado, suponen algunos autores que las raíces excretan ácidos orgánicos.

Para comprobar cuál es la influencia de las bacterias y de los hongos de la rizosfera sobre la asimilación de fosfatos hice una serie de experiencias, en las que las plantas crecieron en condiciones estériles, con diversos compuestos inorgánicos como fuente de fósforo y una serie análoga con medio infectado, ya fuera con 1 por 100 de suelo de huerta o con cultivos de bacterias. Las plantas fueron avena, mostaza y girasol. El modo de

disponer la experiencia es el que puede verse en las fotografías (figuras 4, 5 y 6).

Es evidente que las plantas de las macetas infectadas crecieron mucho mejor que las de las estériles.

Que el efecto sobre los fosfatos de Argelia es mucho menos importante que sobre los fasfotos de calcio ya era de esperar pensando en la naturaleza de estos fosfatos.

No sólo la avena, sino también la mostaza y el girasol aumentaron su peso en las macetas infectadas, aumentando el peso seco en 108 y 122 por 100, mientras la cantidad de fósforo absorbida por la planta en exceso, respecto a las condiciones estériles, subió a 94 y 82 por 100.

Estos resultados indican que los microorganismos son capaces de poner a disposición de las plantas los fosfatos que antes no podían aprovechar.

Para demostrar la acción solubilizante de los microorganismos de la rizosfera se hizo el experimento siguiente: una placa de vidrio oval estéril se cubrió con una capa de agar al 2 por 100, en la cual se precipitó fosfato de cal. Estas placas se acomodaron juntas en recipientes cilíndricos de cultivo de tres litros de capacidad. Los recipientes se llenaron con arena de cuarzo estéril mezclada con nutrientes, fueron sembrados con semillas estériles y cubiertos con arena parafinada y serrín de corcho, como en la forma que antes describí (fig. 7).

Las plantas elegidas fueron Avena y Brassica rapa. Después de seis semanas las placas estaban cubiertas con una capa de raíces y se podía ver que, por debajo de muchas raíces, se habían formado unas zonas claras de solubilización, pequeñas, pero bien distintas. Estas experiencias se hicieron en la primavera, cuando la temperatura es más bien fría en Holanda. Cuando hice estas experiencias en el verano, casi todos los fosfatos en los cultivos infectados fueron disueltos, mientras que en los estériles permanecieron precipitados y blancos (fig. 8).

De estos experimentos puede deducirse que los microorganismos de la rizosfera pueden desempeñar un importante papel en la tarea de poner a disposición de las plantas los fosfatos difícilmente solubles. Sin embargo, las cosas no son siempre tan sencillas como hasta aquí.

En nuestros cultivos y en las placas de agar se puede observar algunas veces que los fosfatos se precipitan a causa de que algunas bacterias elaboran productos alcalinos, amoníaco de las proteínas o de los aminoácidos.

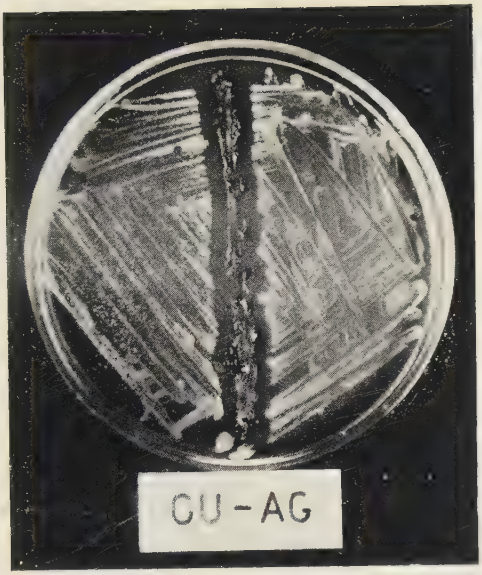


Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

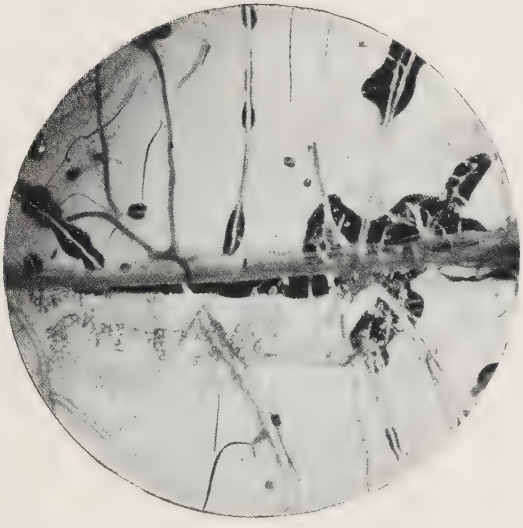


Fig. 8 a.

Fig. 8 b.

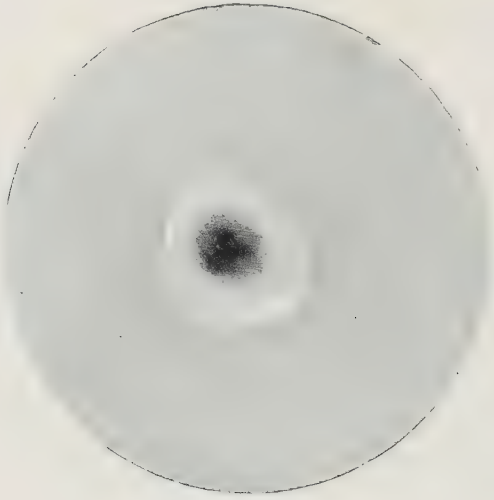


Fig. 9.

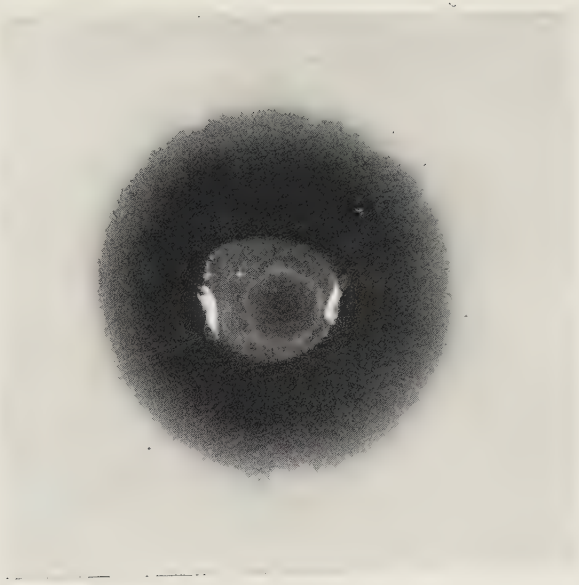


Fig. 10.

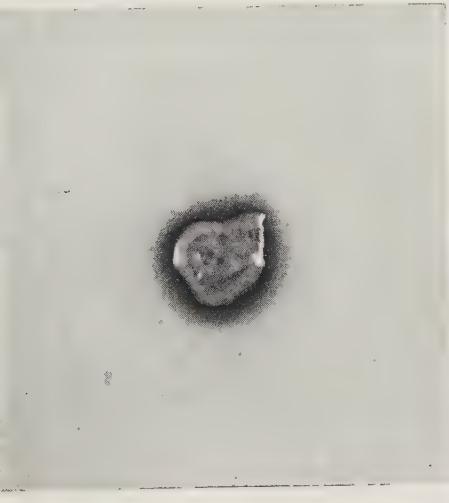


Fig. 11.

Fig. 12.

Más complicada es la disponibilidad del hierro; en una de nuestras series con mostaza (*Sinapis alba*) que habían recibido fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, harina de huesos, etc., se produjo una clorosis importante en la maceta con fosfato dicálcico, que fué infectada. Las plantas quedaron pequeñas, mientras que las cultivadas en las macetas estériles se desarrollaron mejor y sin clorosis.

La adición de citrato férrico mejoró la situación, aunque al final de la experiencia la cosecha de la maceta con fosfato dicálcico e infectada fué 65 por 100 menor que la de la maceta estéril, mientras que había tomado el 61 por 100 menos de fosfato.

En otro experimento se dieron cantidades crecientes, pero bajas de hierro y de fosfato tricálcico. En esta experiencia se observó que en las macetas infectadas, que tenían poco hierro, las plantas eran menores que en las macetas estériles, pero que en las macetas que tenían bastante hierro las plantas infectadas eran mayores.

Es posible que estas notables diferencias estén relacionadas con el equilibrio hierro-fosfatos en los cultivos en arena.

En las macetas infectadas el fosfato es disuelto por los microorganismos de la rizosfera.

Cuando sólo existen pequeñas cantidades de hierro en presencia, la mayor parte del mismo se precipita en la rizosfera en forma de fosfato férrico insoluble, que es una pobre fuente de hierro para la planta. En el cultivo estéril, con la misma cantidad de hierro no hay solubilización microbiológica del fosfato y, por consiguiente, no hay precipitación de hierro en la rizosfera.

Cuando añadimos más hierro a los cultivos que contienen un compuesto de fósforo difícilmente soluble, la situación se invierte. El hierro se combina con los pocos iones de fosfato formando fosfato férrico muy insoluble, y en los cultivos estériles las plantas padecen deficiencia de fosfato.

En el campo puede suceder lo mismo que aquí hemos mencionado, cuando el hierro y el fosfato se combinan bajo la influencia de la actividad microbiana. Esto sucede cuando un suelo que contiene materia orgánica descomponible se inunda durante el invierno o la primavera.

Los óxidos de hierro son reducidos y, finalmente, el hierro se solubiliza en forma de hidrocarbonato ferroso. Este reacciona con los fosfatos

solubles, formando fosfato ferroso, que todavía es disponible por la planta.

Cuando el nivel del agua en el suelo desciende, el oxígeno oxida al fosfato ferroso pasándolo a férrico, que es mucho menos asimilable por la planta, observándose que las hierbas y otras plantas padecen deficiencias de fosfatos.

Hemos visto que en la rizosfera los fosfatos insolubles son solubilizados por los microorganismos. Esto ha ido posible aun empleando cultivos puros de bacterias para aumentar el peso de la planta en un 30 por 100 en comparación con las plantas estériles.

Podemos pensar si sería ventajoso inocular las plantas en el campo cuando se emplean como fertilizantes fosfatos difícilmente solubles.

En la literatura se encuentra repetidamente la cita de que la inoculación de las plantas no leguminosas con bacterias y especialmente con Azotobacter, produce un aumento en la cosecha (Allison 1, 1947). Sin embargo, opinamos que las bacterias y los mohos que producen anhídrido carbónico o ácidos orgánicos a partir del material excretado por las raíces de las plantas están presentes en tal cantidad en todos los suelos cultivados que no sería práctico su inoculación.

Una excepción a esta regla podría ser la de los suelos todavía no cultivados, que tienen una microflora primitiva. En estos casos los fosfatos difícilmente solubles son menos asimilables por la planta y puede ser aconsejable estimular la vida bacteriana añadiendo estiércol u otro material orgánico al suelo.

En la literatura se lee repetidamente que la inoculación de las plantas no leguminosas produce un aumento en las cosechas. ¿Es este fenómeno posible?

Ya en 1895 el investigador alemán Caron obtuvo un aumento en la cosecha de diferentes plantas no leguminosas inoculándolas con bacterias del suelo. Hasta 1934 Caron perseveró en la opinión que de esta manera era posible aumentar la cosecha. Aunque Gerlach y Vogel (1902) obtuvieron con mostaza un aumento del 42 por 100 inaculándolos con Azotobacter, los resultados negativos con otras plantas les obligaron a concluir que la inoculación con Azotobacter no resultaba nunca influencia favorable sobre el crecimiento de las plantas. En la literatura de los últimos decenios se encuentran algunos otros investigadores que han obtenido resultados positivos y otros que no lo han logra-

do (Allison, 1947). Especialmente en Rusia se han apreciado aumentos considerables en la cosecha a consecuencia de la inoculación con Azotobacter; por ejemplo, del 24 por 100 para el tabaco, mostaza y maíz (Sheloumova, 1929-1941), del 37 por 100 para la cebada, del 10-82 por 100 para remolacha azucarera, patatas y maíz.

Demidenco (Allison I, 1947) obtuvo con remolacha azucarera un 43 por 100 de mayor cosecha y 130 por 100 más nitrógeno en las raíces por inoculación con Azotobacter.

También en la India, Karunakor y Rajagopolon (1936) obtuvieron notables resultados inoculando el sorgo con Azotobacter. Sumergieron la semilla durante una hora con una suspensión de Azotobacter y lograron un aumento en la cosecha, de semilla, de 28 al 34 por 100, y en la paja del 36 al 74 por 100.

Experimentos de campo repetidos cinco veces dieron aumentos del 22,7 por 100 en la cosecha y del 10,6 por 100 en la paja. Las experiencias se hicieron con mucho cuidado y los resultados se calcularon estadísticamente.

En América, Greavers y Jones (1942) observaron que en el invernadero, el suelo que había sido almacenado y conservado húmedo durante diecinueve años, había fijado cada año de 30 a 42 kilogramos de nitrógeno por hectárea.

También en Holanda, Maschaupt ha hecho experiencias muy exactas con lisímetros, llegando a la conclusión de que en el campo deben fijarse hasta 60 kilogramos de nitrógeno cada año.

Cuando calculamos cuánta materia orgánica necesita el Azotobacter para fijar tales cantidades de nitrógeno, llegamos a las siguientes cifras: por cada gramo de materia hidrocarbonada se fijan cerca de diez miligramos de nitrógeno. Así, para 30 a 40 kilogramos de nitrógeno se necesitarán de 3.000 a 4.200 kilogramos de carbohidratos. La cantidad total de raíces producidas por diferentes cultivos en una estación llega a un máximo de 2.000 kilos calculados en materia seca.

No debe esperarse que todo este material sea atacado exclusivamente por el Azotobacter. Por el contrario, otros numerosos microbios del suelo le atacarán, y no puede esperanse que de este modo el Azotobacter fije más de unos pocos kilogramos de nitrógeno por hectárea cada año.

Lo mismo es verdad para la rizosfera cuando suponemos que el 10

por 100 de la raíz es excretada como materia orgánica que puede ser usada por el Azotobacter; por consiguiente, en la rizosfera no pueden fijarse más que pocos kilogramos de nitrógeno del aire.

Por esto nos parece que las fantásticas cantidades de nitrógeno de 30 a 60 kilos por hectárea en un año son absolutamente imposibles. Allison (c. s. 1947, II), en América, ha repetido las experiencias de los rusos con seis cultivos diferentes sobre dos suelos distintos. No encontró resultados positivo, y concluyó que sus experimentos se oponen fuertemente a las teorías de los investigadores rusos, que el Azotobacter, viviendo en la rizosfera de las plantas, fija cantidades considerables de nitrógeno, que son utilizados para estas plantas.

Esto hubiera relegado todo el problema, pero, al principio de este año, un investigador alemán, Bukastch (1952), atacó el problema desde otro punto de vista.

En primer lugar pudo probar que en la rizosfera de diferentes plantas cultivadas en el suelo el Azotobacter se halla en mayor número que en el suelo circundante. En segundo lugar encontró que estas estirpes de Azotobacter se hallan muy adaptadas a la planta huésped. Esto significa que las secreciones radiculares estimulan el crecimiento de diferentes estirpes de Azotobacter en la rizosfera. Hemos repetido estas investigaciones en nuestro laboratorio y hemos hallado un número de diferentes estirpes de Azotobacter. Bukatsch dice que, por ejemplo, el Azotobacter aislado del trébol fija cuatro veces tanto nitrógeno en diez días como un Azotobacter aislado de las raíces de girasol.

El investigador de Pakistán, Hussain Aleem, trabajando en nuestro laboratorio obtuvo las cantidades siguientes de nitrógeno fijado por distintas estirpes de Azotobacter, aislado de las raíces de diferentes plantas.

Origen de la estirpe de Azotobacter.	Mg. N fijado en ocho días por gramo de glucosa en cultivo líquido aireado.
Trébol encarnado	14,0
Beta vulgaris	5,6
Zea mais I	33,9
» » II	11,4
» » III	32,5
Helianto I	18,0
» II	26,9
Trigo	8,4

Las estirpes aisladas de la rizosfera de estas plantas no sólo se distinguen por su capacidades diferentes de fijar nitrógeno, sino también por sus características morfológicas y fisiológicas.

Un tercer punto, el cual fué investigado por Bukatsch, se refiere a la cuestión de si existen también otros factores que estimulen el cultivo de las plantas cuando son inoculadas con Azotobacter.

La investigadora rusa Srta. Isacova, quien originalmente fué partidaria de la teoría de la fijación de nitrógeno, ha cambiado también y cree que el efecto favorable de la inoculación con Azotobacter era causado por substancias promotoras del crecimiento, las cuales serían sintetizadas por el Azotobacter. Bukatsch mostró que filtrados de cultivos de Azotobacter, libres de bacterias, retardaban el crecimiento de las raíces del maíz, guisantes y centeno y que los mismos, en una dilución de 1/500, aumentaban la inhibición del 20 al 30 por 100 del normal. Por otro lado, el crecimiento de coleoptilos de centeno fué aumentado en un 100 por 100. Esta acción es análoga completamente a aquella de la bien conocida hormona del crecimiento ácido indol acético.

Otra observación muy interesante fué que cuando la semilla de guisante fué empapada con una suspensión de Azotobacter aislado de guisante, el rendimiento de los guisantes se incrementó en un 26 por 100, conteniendo además 32 por 100 más nitrógeno, mientras cuando se empleó un cultivo de Azotobacter aislado del maíz, el incremento fué sólo del 21 por 100.

Parece que la cuestión es más complicada que como nosotros pensá-

bamos había de ser. Uno tiene la impresión de que el método empleado por la investigadora rusa, empapando las semillas en suspensiones de Azotobacter o usando cultivos de Azotobacter para inoculación, tiene algunos aspectos desconocidos, los cuales deben ser investigados.

Sin embargo, el hecho de que este método haya dado resultados solamente en Rusia e India, con una agricultura muy extensa y un empleo muy limitado de fertilizantes, le hace a uno sentirse algo escéptico con respecto a posibles resultados prácticos en otros países con un mayor nivel técnico de agricultura.

Cuando volvemos a la rizosfera vemos que el investigador canadiense Timonin ha mostrado que en el caso de plantas susceptibles de diferentes enfermedades propagadas por el suelo, las variedades resistentes tienen menos microorganismos en su rizosfera que las susceptibles. Así, en el caso del lino susceptible al Fusarium lini encontró seis veces más bacterias en la rizosfera de esta planta que en aquella de la variedad resistente. En el caso de tabaco encontró dos veces más bacterias.

Ahora surge la cuestión de si esto es debido a alguna substancia orgánica excretada por las raíces o por alguna otra causa.

Timonin (1940) pudo mostrar que en el caso de las variedades resistentes del lino el medio líquido de cultivo, en el cual esta variedad había crecido, contenía una substancia que interfería con el crecimiento del hongo.

Todavía existe otra posibilidad, la cual podemos mostrar en el caso de una deficiencia en manganeso (Gerretsen, 1949).

Las plantas deficientes en manganeso tenían cuatro o cinco veces más bacterias en sus raíces que plantas que tenían suficiente manganeso. En este caso la causa real probó ser la reducida fotosíntesis en las plantas pobres en manganeso, lo cual resultó en una resistencia reducida de las raíces hacia los microorganismos saprofíticos invasores.

Quiero agradecer al Prof. L. Vilas la ayuda prestada en la tradución de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

(1) **ALLISON, F. E.**—1947. Azotobacter inoculation of crops. I Historical. **Soil Science.** 64: 415-429.

(2) **ALLISON, F. E., V. L. GADDEN, L. A. PINCK** and **W. H. ARMIGER.** 1947. Azotobacter inoculation of crops II. Effect on crops under greenhouse conditions. **Soil Science.** 64: 489-497.

(3) **BUKATSCH, F.** und **J. HEITZES.**—1952. Beiträge zur Kenntnis der Physiologie der Azotobazter. **Archif f. Mikrobiologie Bd.** 17: 79-96.

4() **CARON, A.**—1895. Landwirtschaftliche Probleme. **Londwitschaftliche Versuchsstationen.** 45: 401-418.

(5) **CARON, A.**—1931. Luftstickstoff, Planzenwachstum und Brache. **Landwirtschaftliche Versuchsstationen.** 118: 233-262.

(6) **CLARK, F. E.**—1949. Soil microorganisms and plant roots, **Advances in Agronomy.** 1: 246.

(7) **GERLACH, M.** und **J. VOGEL.**—1902. Weitere Versuchen mit stickstoffbindenden Bakterien. **Zentralblatt f. Bakteriologie** II 9: 861-892.

(8) **GERRETSEN, F. C.**—1935. Das Katadynverfahren zur sterilen Kultur höherer Pflanzen. **Planta** 23: 593-603.

(9) **GERRETSEN, F. C.**—1948. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. **Plant and Soil** I: 51-81.

(10) **GERRETSEN, F. C.**—1949. Manganese in relation to photosynthesis. **Plant and Soil** 1: 346-358.

(11) **GREAVES , J. E.** and **L. W. JONES.**—1942. Inoculation of soil with Azotobacter chrococcum. **Soil Sc.** 53: 229-232.

(12) **KARANUKAR, P. D.** and **T. RAJAGAPALAN.**—1936. Azotobacter inoculation of seeds of cereals. **Proc. Assoc. Econ. Biologists. Coimbatore.** 4: 64-75.

(13) **KATZNELSON, H.**—1946. The rhizosphere effect of Mangels on certain groups of soil microorganisms. **Soil Science.** 62: 343-354.

(14) **KATZNELSON, H., A. G. LOCHHEAD** and **M. I. TIMONIN.**—1948. Soil microorganisms and the rhizosphere. **Botanical Review.** 14: 543-587.

(15) **LINFORD, M. B.**—1942. Methods of observing soil flora and fauna associated with roots. **Soil Sc.** 53: 93-103.

(16) **MAZE, P.**—1911. Recherches sur la physologie végétal. **Ann. Inst. Pasteur.** 25: 705-738.

(17) **STARKEY, R. L.**—1929. Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. **Soil Science.** 27: 319-334; 355-378; 433-444.

(18) **STARKEY, R. L.**—1938. Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. VI. **Soil Science.** 45: 207-239.

(19) **SHELOUMOVA, A.**—Citado según Allison.

(20) **TIMONIN, M. I.**—1940. The interaction of higher plants and soil microorganisms. **Canadian Journ. of Research B.** 18: 444-456.

(21) **VIRTANEN, A. J. and T. Laine.**—1939. Investigations on the root nodule bacteria of leguminous plants. The excretion products of root nodules. **Biochem. Journal.** 33: 412-427.

(22) **WILSON, P. W.**—1940. The biochemistry of symbiotic fixation. Madison.

C. S. I. C.
INSTITUTO "JAIME FERRAN", DE MICROBIOLOGIA

LA NATURALEZA DE LOS SIMBIOTES INTRACELULARES DE BLATTELLA GERMANICA (*)

por
Julio Pérez Silva.

Entre las células del cuerpo graso de la mayoría de los insectos se encuentran, distribuídos más o menos ordenadamente, otros elementos celulares cuyo protoplasma contiene abundantes corpúsculos de variada morfología. Estos corpúsculos fueron, en un principio, considerados por muchos autores como concreciones de uratos y de ácido úrico; relacionando, por este hecho, el cuerpo graso con los tubos de Malpigio, es decir, atribuyéndole una función excretora.

Fué Blochmann, en 1887, quien, trabajando con Periplaneta orientalis, vió en estas células especiales de su cuerpo graso unos corpúsculos alargados, de extremos redondos, que consideró como bacterias, basándose en la morfología; quiso probarlo por medio del cultivo en medios artificiales, pero fracasó en su intento.

Este descubrimiento de Blochmann hace cambiar completamente la idea que del cuerpo graso se tenía: el cuerpo graso pasa a ser un órgano o sistema que alberga microorganismos. No obstante, como suele ocurrir en estos casos, surgen dos corrientes: los clásicos, inertes a todo cambio, que consideran los corpúsculos todo lo más como mitocondrias, y los múltiples autores, posteriores a Blochmann, que no sólo encuentran bacterias, sino que, además, describen levaduras y rickettsias en determinados insectos.

Actualmente, la hipótesis de la naturaleza mitocondrial de estos corpúsculos no es admitida, pues existen claras diferencias tintoriales entre mitocondrias y bacterias.

(*) Trabajo presentado en la sesión celebrada en Madrid por la Sociedad de Microbiólogos Españoles el día 19 de octubre de 1953.

A medida que se va consolidando la idea de que el cuerpo graso es un órgano o sistema albergador de simbiotes, va surgiendo, entre otros, el problema de la naturaleza de éstos.

Son muchos los autores que se han dedicado a la resolución de este problema; sin embargo, hasta el presente no hemos encontrado en la literatura una solución satisfactoria.

Muchos de los autores han creído resolver el problema basándose tan sólo en la morfología que los simbiotes presentan en los micetocitos (células que contienen los simbiotes). Otros han conseguido cultivar microorganismos a partir de los micetomas o del cuerpo graso y luego los han clasificado.

Nosotros podemos establecer a priori que no es posible resolver científicamente esta cuestión hasta que no se hayan cultivado los simbiotes intracelulares en medios artificiales; y aún más, una vez conseguido el cultivo, este problema sigue siendo de difícil solución, pues en los casos en que nosotros hemos logrado el cultivo en medios artificiales, hemos observado que presenta un extraordinario pleomorfismo, tan acusado a veces que dificulta en gran manera la clasificación.

Limitándonos ahora a los simbiotes de los Blátidos, vamos a exponer las hipótesis sobre su naturaleza que hemos encontrado en la literatura; podemos adelantar que, debido a la forma bacilar que estos organismos prensentan en su habitat notural, han sido considerados como bacterias por la mayoría de los autores; sin embargo, como pronto veremos, no faltan quienes, como Iwoff, los consideran como levaduras.

Ya hemos dicho que Blochmann, aunque no consiguió cultivarlos, los consideró como bacterias. Compartieron la idea de Blochmann toda una serie de seguidores suyos que tampoco obtuvieron resultados positivos en sus experiencias de aislamiento; entre éstos están Krassiltschik (1889) y Forbes (1892), quienes también trabajaron con *Periplaneta orientalis*.

En 1906, Mercier manifiesta haber cultivado un bacilo esporulado al que da el nombre de *Bacillus cuenoti*; sin embargo, en 1914, Javelly repite las experiencias de Mercier y no obtiene ningún resultado positivo, a pesar de haber empleado diversos medios de cultivo; por esto termina su trabajo afirmando que el bacilo cultivado por Mercier no tiene ninguna relación con los corpúsculos intracelulares del cuerpo graso

de la cucaracha, llegando incluso a dudar de la naturaleza microbiana de estos corpúsculos.

Glaser, en 1920, comunica que en sus trabajos de aislamiento de microbios intracelulares en Parcoblatta virgínica y en Periplaneta americana ha cultivado un espirilo de cada una de estas especies. Nueve años más tarde, este mismo autor desmiente sus anteriores resultados; pero ya, antes de que Glaser reconociera su error, Marshal Hertig, en 1921, trabajando con Blattella germánica, Blatta orientalis y Periplaneta americana, no pudo confirmar los resultados de aquél y sacó la conclusión de que los espirilos que Glaser había cultivado no representaban la forma cultural de los bacteroides.

Curt Gropengiesser, en 1925, comunica que ha aislado de Periplaneta orientalis y de Blatta germánica una levadura, un bacilo y una Sarcina; a esta última la considera como contaminación, mientras que a los otros dos microorganismos los considera como las formas culturales de los bacteroides de los Blátidos que estudió.

En 1929 aparece un nuevo trabajo de Glaser en el que dicho autor comunica haber aislado del cuerpo graso de Periplaneta americana tres variedades de un difteroide para el que propone el nombre de Corynebacterium periplanetae. Este mismo autor, en 1930, publica otro trabajo en el que dice que, trabajando con Blattella germánica, ha aislado otro difteroide (C. blattellae) que, según sus descripciones, difiere del C. periplanetae.

Estos resultados de Glaser han sido comentados en 1946 por Gier, quien, repitiendo las técnicas de aquél y modificándolas en el sentido de obtener una esterilización más perfecta y trabajando en condiciones más seguras de asepsia, no logró confirmar sus resultados; antes al contrario, dice que los difteroides cultivados por Glaser son debidos a contaminación.

A la vista de esta ligera exposición de la literatura, nos afirmamos más en nuestra idea de la dificultad de clasificación que presentan los simbiotes intracelulares de los Blátidos; pues, aunque la mayoría de los autores los consideran como Eubacteriales, basándose en el estudio de las diferentes especies de microorganismos que se han aislado, no obstante, Lwoff, fundándose en las características que presentan en su habitat natural, establece la duda diciendo que morfológicamente pueden ser considerados como bacterias, pero que por la manera de reproducirse se

parecen a las levaduras, aunque no se ha podido observar el núcleo. Añade que en el caso de que sean bacterias han de estar incluídas en el género Bacillus, y si son levaduras pertenecen a los Schizosaccharomyces, por los tabiques transversales que presentan.

Nosotros, basándonos en los hechos que a continuación expondremos, adoptamos las ideas neopleomorfistas y consideramos a los simbiotes intracelulares de los Blátidos como un estado intermedio entre levadura y bacteria.

Si hacemos una extensión de cuerpo graso de Blattella germánica, la teñimos por el método de Gram (mod. de Hucker), podemos observar al microscopio sus simbiotes intracelulares, los cuales presentan una morfología claramente microbiana; se presentan formas alargadas (de 1 a 2 micras de ancho por 4 a 6 de largo), Gram-positivas, generalmente un poco curvadas y de extremos redondeados. Se producen, según se desprende de nuestras preparaciones (fig. 1), por una especie de división desigual, que más bien parece una gemación, pues no es raro encontrar células alargadas comó las que acabamos de describir, en cuyo extremo hay una «célula hija» que es perfectamente esférica.

También en los frotis de cuerpo graso podemos encontrar restos de micetocitos en los que se puede apreciar el núcleo rodeado por estos simbiotes.

Estos caracteres morfológicos que acabamos de exponer los presentan los simbiotes intracelulares de todos los Blátidos y, según Koch, los de un termes australiano, Mastotermes darwiniensis. Este autor, basándose en la analogía existente entre los simbiotes, relaciona filogenéticamente los Blátidos con los Isópteros.

Nosotros, modificando en algunos puntos las técnicas de disección y siembra del Glaser, hemos cultivado los simbiotes intracelulares de Blattella germánica en el medio de Löwenstein sin colorante, el cual fué empleado por Socías (comunicación personal) en sus estudios de transformación bacteriana, especialmente para el aislamiento del posible agente etiológico del tracoma. (Hemos de decir aquí que este medio de cultivo tiene el inconveniente de que se contamina con extraordinaria facilidad; por tanto, es imprescindible someterlo a un riguroso control y manipularlo con sumo cuidado.) Este medio de Löwenstein sin colorante es el único donde hemos conseguido el cultivo, aunque no en todos los casos, pues no hemos logrado cultivar los simbiotes de los individuos machos ni tam-

poco los de las hembras jóvenes o adultas no fecundadas. Solamente hemos obtenido resultados positivos trabajando con hembras fecundadas y muy próximas a verificar la puesta. Hemos obtenido dos tipos de resultados:

Si la siembra la hacemos cuando va a comenzar la puesta (la ooteca comienza a formarse) obtendremos, a las cuarenta y ocho horas de incubación a 27° C, unas colonias pequeñas (0,5 mm. de diámetro) transparentes, formadas por un microorganismo Gram-positivo, pleomórfico, cuya forma más frecuente son unos bacilos largos (1 micra × 8 a 20 micras) que se pueden presentar aislados o formando cadenas de 3 a 5 elementos (fig. 2); también existen formas bacilares cortas, pero fuertemente curvadas, que se asemejan a una espira de Vibrion. No faltan en las extensiones de estas colonias formas más o menos esféricas.

Si verificamos la siembra cuando los ovarios contienen huevos completamente desarrollados, pero sin que se observen indicios de que se vaya a formar la ooteca, nos aparecen, a las veinticuatro a cuarenta y ocho horas de incubación a 27° C, unas colonias de unos 3 mm. de diámetro, brillantes, de color amarillo, compuestas por un organismo levaduriforme con verdadero micelio. Estas formas son fuertemente Gram-positivas. Crecen bien en agarmalta, dando, a las veinticuatro horas de incubación a la temperatura de 27° C, unas colonias blancas, brillantes y de consistencia viscosa. En frotis de estas colonias podemos observar un microorganismo Gram-positivo, claramente levaduriforme, que presenta la particularidad (fig. 3) de formar grupos de 3 ó 4 células, que se disponen alrededor de un punto. En este mismo cultivo, a los cinco días de incubación, las células son más alargadas, adoptando la forma que presentan en el cuerpo graso (compárense las figuras 1 y 4), dato de mucha importancia para que podamos relacionar directamente e identificar el cultivo con los simbiotes y que nos confirma que no se trata de un organismo contaminante.

DISCUSION

Aunque, según se desprende de nuestras experiencias, no existe diferencia morfológica entre los simbiotes intracelulares de insectos de distinto sexo y diferente estado de desarrollo, sin embargo, los simbiotes de *Blattella germánica* no son aislables en todos los casos,

sino que hemos de sorprender al insecto en la época propicia para el aislamiento de sus simbiotes. Aún en esta época podemos obtener dos resultados diferentes según el momento en que hagamos la siembra.

Podemos explicar estos hechos si se admite nuestra hipótesis de trabajo. Se ha demostrado (Glaser, Gier, Buchner, Mahdihasan, Pierantoni, Ries, etc.) que los simbiotes intracelulares de los insectos se transmiten de generación en generación, y que el mecanismo de propagación es la invasión del huevo cuando este se encuentra en vías de desarrollo. También es un hecho probado (Buchner, Aschner, Ries, etc.) que los simbiotes son imprescindibles para la nutrición y desarrollo de su huésped. Sin embargo, aquellos no se multiplican libremente, sino que, según nuestra opinión, están estrechamente controlados por el metabolismo del insecto, esto es, en ciertas épocas la multiplicación de los simbiotes está obstaculizada, evitándose así una superabundancia de éstos, que redundaría en perjuicio del huésped (esta inhibición ocurriría en las hembras no fecundadas y en los machos); pero cuando, en las hembras fecundadas, los simbiotes han de invadir a cada uno de los huevos, habrá un estímulo que provocará la multiplicación de éstos, no sólo en el interior de los micetocitos, sino también si lo sembramos en medios artificales que, como el de Löwenstein sin colorante, sea lo suficientemente complejo.

Creemos que tanto la «bacteria» como la «levadura» que hemos aislado corresponden a un mismo microorganismo (en los micetocitos se observa un sólo tipo de microbios) que, al ser sembrado en diferentes fases de su ciclo evolutivo en un medio artificial, se desarrolla en dos direcciones distintas, dando lugar a dos microorganismos que tanto morfológica como fisiológicamente son diferentes.

RESUMEN

Los simbiotes intracelulares de los Bláttidos han sido considerados por la mayoría de los autores como Eubacteriales.

Nosotros hemos hecho cultivos de los simbiotes intracelulares de Blattella germánica ♀ y hemos conseguido cultivar un organismo bacteriforme y otro levaduriforme.

Creemos que estos dos microorganismo, aunque en medios artificiales son completamente diferentes, proceden de un solo tipo de simbiote,

el cual puede, en medios artificiales, evolucionar en dos sentidos: hacia levadura o hacia bacteria.

Consideremos a los simbiotes intracelulares de Blatella germánica como formas intermedias entre levaduras y bacterias.

BIBLIOGRAFIA

(1) **BODE, HANS.** 1936. Untersuchungen über die Symbiose von Tiere mit Pilzen und Bakterien. V. Mitteilung: Die Bakteriensymbiose bei Blattiden und Verhalten von Blattiden beiaseptischer Aufzunch. **Arch. Mikrobio.** 7; 391-403.

(2) **BUCHNER, PAUL.** 1949. Symbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Walter de Grunter & C. Berlín.

(3) **BUXTON, P. A. The Louse.** Edward Arnold & Co. London.

(4) **GIER, H. T.** 1946. Intracellular bacteroids in the roach (Periplaneta americana). **J. Bacteriol.** 57: 157-189.

(5) **GLASER, R. W.** 1920. Biological studies on intracellular bacterio. **Biol. Bull.** 39: 133.

(6) ——— 1929. On the isolation and classification of the so-called intracellular «symbionts» or «rickettsia» of Periplaneta americana. **J. Exptl. Med.** 51: 59-82.

(7) ——— 1930. Cultivation and classification of the «bacteroids», «symbiontic» or «rickettsia» of Blattella germánica. **J. Exptl. Med.** 51: 903-907.

(8) ——— 1946. the intracellular bacteria of the cockroach in relation to symbiosis. **J. Parasitol.** 31: 383-489.

(9) **GROPENGIESSER, CURT.** 1925. Untersuchungen uber die Symbiose der Blattiden mit niederen pflanzlichen organismen. **Zentr. Bakt. Parasitenk.,** II. 64: 495-511.

(10) **JAVELLY.** 1914. Les corps bacteroides de la blatte (Periplaneta orientalis) n'ont pas encore été cultivés.

(11) **HERTIG, H.** 1921. Attempts to cultivate the bacteroids of the Blattidae. **Biol. Bull.** 41: 181.

(12 **KOCH, A.** 1938. Die Bakteriensymbiose der Termiten. Verhand. der Deuschen Zoolog. Gesellschaft. 81-90.

(13) **KOCH, A.** 1951. Die Bakteriensymbiose der Kopflaus. **Mikrokosmos.** Octubre, 1951.

(14) **LWOFF, A.** 1923. Nature et position systematique des bacteröides des Blattes. **C. R. Soc. Biol.** 89: 945-946.

(15) **MAHDIHASSAN, S.** 1939. Pigmentbildenden Bakterien aus einer entsprechend gefârbten Cicaden. Verhandl. der Deuschen Zoolog. Gesellschaft.

(16) ——— 1939. Bacterial Symbiosis in a Margarodes sp.

(17) **MERCIER, M. L.** 1906. Les corps bacteroides de la Blatte (*Periplaneta orientalis*). *Bacillus cuenoti* (n. sol. L. Mercier). **C. R. Soc. Biol.** 61.

(18) **PIERANTONI, U.** 1943. Compendio de Biología. Edic. Labor, S. A. Madrid.

(19) **SOCIAS, A.** 1944. Formas seudocelulares del agente etiológico del tracoma. **Revista de Sanidad e Higiene Pública.** Año XVIII. n.º 7.

(20) ——— 1949. Un hongo (Eumyceto) se transforma en bacteria (Schizomyceto). **Anales de Edafología y Fisiología Vegetal.** Tomo VIII, n.º 2.

(21) ——— 1950. Bacterias y mohos procedentes de cultivos de folículos tracomatosos. **Microbiología Española.** 3 (2), 99-116.

(22) ——— 1950. Formas micósicas en la conjuntiva tracomatosa. **Microbiología Española.** 3 (3/4), 187-198.

(23) ——— 1951. De la metilación orgánica como factor de la transformación moho-bacteria y su papel en la etiología microbiana del tracoma. **Microbiología Española,** 4 (1), 33-38.

(24) ——— **C. GONZALEZ** y **RAMIREZ.** 1952. Transformación de varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium* em *Bacillus Subtilis*. **Microbiología Española,** 5 (3/4), 133.

(25) ——— y **C. GONZALEZ.** 1952. Ciclo vital levadura-bacteria. **Microbiología Española,** 5 (3/4), 169.

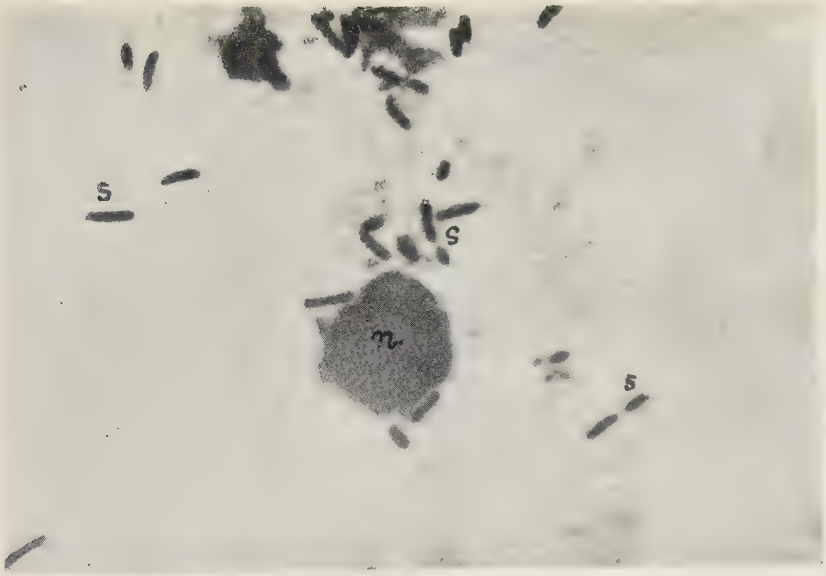


Fig. 1.—Frotis de cuerpo graso de Blattella germánica. *n, núcleo de un micetocito; s, simbiotes.*

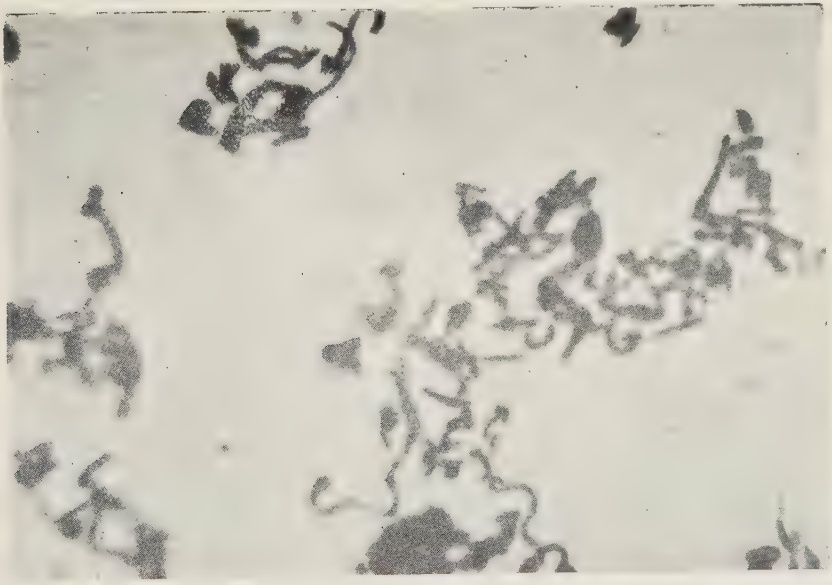


Fig. 2.—Microorganismo pleomórfico aislado del cuerpo graso de B. germanica ♀ *cuando se está formando lo ooteca.*

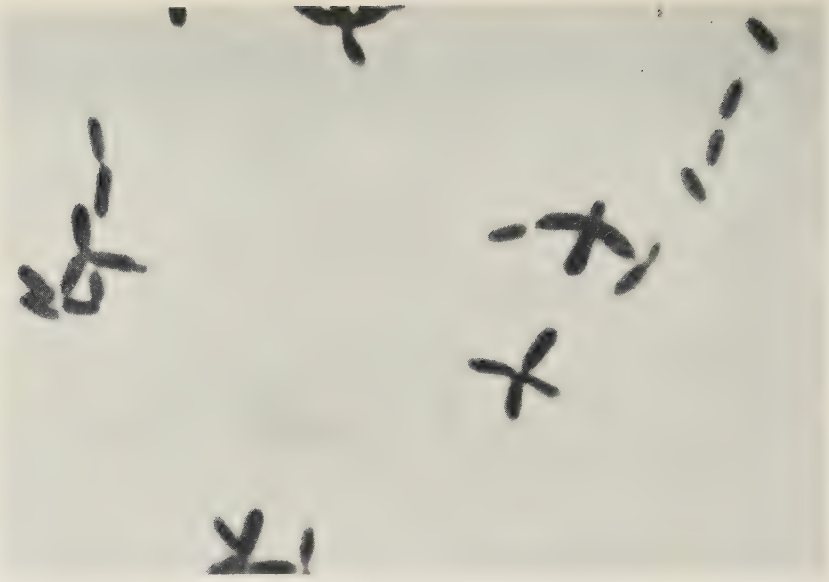


Fig. 3.—Microorganismo levaduriforme aislado de B germanica ♀ *poco antes de iniciarse la formación de la ooteca. Cultivo de cuarenta y ocho horas en agar-malta.*

Fig. 4.—El mismo cultivo de la figura anterior; a los seis días de incubación.

INFORMACION

EL VI CONGRESO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA

Treinta y tres años han transcurrido desde que por primera vez los Microbiólogos se reunían en un Congreso Internacional, y esto ocurría en 1930, en París. Durante este lapso de tiempo hubo cinco Congresos, y el VI ha tenido lugar en Roma, en el mes de septiembre de 1953.

Es alentador pensar que en aquel primer Congreso citado, los españoles estuvimos presentes, mas el número de trabajos que en él presentamos fué bien escaso. En este último Congreso de Roma —en cambio— el número de trabajos ha superado a los treinta. Quiere esto decir que España ha estado presente en la actualidad, no tan sólo físicamente, sino además científicamente, ya que podemos añadir que la mayoría de estos trabajos han sido de la misma categoría que podían ser los de otras naciones allí presentes.

No podemos por menos de felicitarnos, y para que quede una constancia de estos hechos, aquí presentamos la lista de los trabajos y de los autores que se presentaron en Roma.

BERMUDEZ PAREJA, M.—«Obtención y empleo del toxoide diftérico».

BUSTINZA LACHIONDO, F.—«Actividad antimicrobiana de extractos crudos de *Lichina pigmaea*».

——— «Actividad antibiótica del *Penicillium funiculosum* Thomstrain C 20 A.»

CALLAO FABREGAT, V.—«Bacteriología del enriado del esparto».

COVALEDA ORTEGA, J., y CARTAÑA, P.—«Estudio biológico de ciento veinticinco cepas de *My. tuberculosis* aisladas de líquido cefalorraquídeo de meningitis tuberculosa».

COVALEDA, J., y PUMAROLA, A.—«Leptospirosis por *L. ballum* en los trabajadores de arrozal de la región de Camarlés (Delta del Ebro)».

——— «Aglutinación de Leptospiras (*L. pomona*, *L. mitis*, *L. icterohaemorrhagiae*) por los sueros de cerdos sanos».

COVALEDA, J., y SOLER DURALL, C.—«Sobre la vitalidad y resistencia del Toxoplasma gondii».

FOZ, A.—«Acción del calor sobre la función anticuerpo de los inmunosueros».

GALLARDO, E.—«Linfas antivariólicas embrionarias».

HIDALGO, L, GARRIDO, J., y REUS, A.—«Aplicación de la prehidrólisis ácida de productos ligno-celulósicos a la obtención de levaduras alimento».

GONZALEZ VAZQUEZ, C.—«Estudio de los bacilos que resultan del ciclo vital moho-bacteria y levadura-bacteria».

IZQUIERDO TAMAYO, A., y GONZALEZ, F.—«Microbiología de la fermentación de tabacos españoles».

JORDAN DE URRIES, M.—«Efecto de las condiciones del medio ambiente en las reacciones de las variedades diferenciales de P. rubigo-vera tritici, inoculadas con algunos aislamientos de las razas de esta roya más frecuente en España».

MINGUEZ PEREIRO, M.—«Contribución al estudio de la flora dermatofítica de Galicia (España). Estudio micológico de las cepas aisladas».

MORENO LOPEZ, M.—«El género Bordetella».

PEREZ SILVA, J.—«Cultivo «in vitro» de simbiotes intracelulares de insectos».

PIQUERAS, V.—«Efecto bactericida de la radiofrecuencia en la leche de vaca».

PUMAROLA, A.—«Gérmenes del grupo Salmonella en los ganglios mesentéricos de cerdos aparentemente sanos».

RAMIREZ GOMEZ, C.—«Introducción de una modificación al método de Wickerham para la determinación del poder fermentativo de la rafinosa por las levaduras».

——— «Dos nuevas especies de levaduras aisladas de distintos sustratos. Saccharomyces sociasi nov, sp.».

SOCIAS AMOROS, A.—«Ciclo vital moho-bacteria (Bacillus)» (I).

——— «Ciclo vital moho-bacteria» (III).

SOCIAS, A., y GONZALEZ, C.—«Ciclo vital levadura-bacteria».

——— «Ciclo vital moho-bacteria» (III).

VALLS CONFORTO, A.—«Un bacilo productor de antibióticos».

——— «Factores físicos en floculación de anatoxinas».

——— «Un medio de cultivo para bacilos de la leche».

VALLS CONFORTO, A.—«Dispositivo para conservación y envío de cultivos».
——— «Tinción de ácido resistentes en productos patológicos».
——— «Fenómenos de fase con antisépticos».
——— «Un germen fermentador de la goma de algarroba».
XANDRI TAGUEÑA, J. M.ª, e HIDALGO, L.—«Aportación al estudio de la fermentación cítrica por *Aspergillus níger*».

El Congreso de Roma empezó el 6 de septiembre y duró, como acontece generalmente en estos casos, toda una semana, semana que fué verdaderamente intensa en cuanto a reuniones, relaciones, visitas, etc., propias de un Congreso.

La representación española, presidida por el Dr. Ruiz Falcó, que de hecho ha sido el maestro de casi todos los microbiólogos españoles actuales, tuvo un papel bien destacado en aquel medio ambiente.

No siempre es posible en estas reuniones —y más en los tiempos actuales— el poder asistir todos los que desearan y que tienen trabajos que presentar de verdadero interés, pero los españoles que en este Congreso estuvieron presentes no fueron ni mucho menos escasos. Así pues, allí hicieron acto de presencia el Dr. Bermúdez Pareja, de la Escuela de Sanidad Nacional de Madrid; Prof. Bustinza, de Fisiología Vegetal de la Universidad de Madrid; el Prof. Covaleda, de Higiene y Sanidad de la Universidad de Barcelona; el Dr. Foz, del Hospital Municipal de Infecciosos de Barcelona; el Prof. Ovejero, de Microbiología Veterinaria de León; el Dr. Martínez Piqueras, de la Facultad de Farmacia de Madrid; el Prof. Socías, de Bacteriología de la Universidad de Madrid; el Dr. Valls Conforto, del Laboratorio Municipal de Barcelona; el Prof. Vilas, de Microbiología, de la Universidad de Madrid; el R. P. Puiggros, de la Sección de Fermentaciones del Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología de Barcelona; el Prof. Zapatero, de Higiene y Sanidad, de la Universidad de Valladolid, etc.

Entre los trabajos que se presentaron los había procedentes, además, de Sevilla, Santiago de Compostela, etc.

Merece ser destacada en este Congreso la excelente organización que hubo en el transcurso de la semana científica. Las reuniones tuvieron lugar en la Ciudad Universitaria de Roma, excelente marco que, dentro de su sobriedad, está de acuerdo con aquella elegancia y modo de ser tan propio de los edificios que representan, podemos decir que como en ningún lugar, todas las épocas de la civilización en la Ciudad Eterna. Ciudad

Universitaria moderna, pero que no desdice nada en su medio ambiente. Da la coincidencia a la vez de que, aunque no dentro del recinto pero sólo atravesando una calle, se encuentra también el «Istituto Superiore di Sanità» de Roma, el cual fué igualmente sede de las reuniones del Congreso, especialmente para los s y m p o s i u m s que tuvieron lugar.

Un grupo de congresistas españoles durante la excursión a Tívoli.

No podemos por menos que referirnos a este Instituto modelo, que —sin exageraciones— es uno de los mejores del mundo, por la extensión de materias que abarca y la profundidad de trabajos que allí se realizan; es conocido mundialmente y después de este Congreso va a serlo aún más, y más meritoriamente, ya que es digno de todo elogio su organización, la competencia de su personal, y de admirar la potencialidad económica que a través de todas sus secciones y servicios, como un firme s u s t r a t u m , se nota continuamente.

Al frente de este Institución hay un hombre excepcional como genio organizador y Director, que es el Profesor Domenico Marotta. En el mismo, como Jefe de Sección de Bacteriología, está el Profesor Giusepe Penso, que es un buen amigo de España, y al que recordamos de las varias visitas que ha realizado a nuestra Patria y de las conferencias que ha dado en esta Sociedad de Microbiólogos.

La Presidencia del Comité organizador, a cargo del Profesor Puntoni, que rige la Cátedra de Higiene de la Universidad de Roma y que tiene una larga y gloriosa historia de investigador en el terreno de la Microbiología, fué un acierto.

Aparte de las figuras obligadas en todo Congreso de Microbiología (nos referimos a los Premios Nóbel, Fleming y Waksman), de las personalidades destacadas en el mundo científico de las materias correspondientes a este Congreso, asistieron, tal vez en mayor número que en ningún otro; lo que se explica, pues no en vano el Congreso se realizaba en la Roma Eterna.

En él, los españoles saludamos como conocidos por relaciones anteriores, al Prof. Hauduroy, de Laussane; Prof. de Barbieri, de Milano; Profesor Ciferri, de Pavía; Prof. Ramón, de París; Christian Sten, de Copenhague; Prof. Olimpio Da Fonseca, del Brasil, etc.

La apertura oficial del Congreso tuvo lugar en el Aula magna de la Universidad de Roma, con asistencia de las personalidades más destacadas de la política y las ciencias de nuestra nación hermana.

Merece destacarse igualmente (dentro del cúmulo de exquisitas atenciones con que en todo momento fuimos tratados los congresistas, lo que fué, sin duda, la nota gentil relevante del Congreso), la recepción que tuvo lugar en el Campidoglio, donde, después de admirar el Museo que encierra aquel recinto preñado de tradiciones tan nuestras, como latinos que somos, fuimos luego obsequiados por el Municipio de la ciudad romana.

En el banquete oficial nos reunimos la mayoría de Congresistas para cerrar con broche de oro las relaciones iniciadas durante la semana, y que constituyen uno de los motivos más importantes de todo Congreso, haciendo votos de sincera hermandad científica para el futuro, en bien de la humanidad.

Por último, no podemos cerrar esta breve nota sobre el VI Congreso Internacional de Microbiología sin recordar la emocionada visita que hicimos casi todos los asistentes a Castelgandolfo, a rendir pleitesía y homenaje a Su Santidad el Papa, quien nos dirigió una emocionada plática en aquel medio ambiente romano y en aquellos palacios llenos de Historia, donde su figura venerada destacaba y realzaba con esa su vigorosa personalidad, mezcla de sabio y de santo, que deja en todos cuantos le visitan el grato aroma del verdadero amor paternal.

ACTAS DE LA SOCIEDAD

MADRID

Acta de la sesión celebrada el día 25 de mayo de 1953.

Bajo la presidencia de don Antonio Ruiz Falcó se abre la sesión a las 20,10 horas en el aula del edificio central del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Serrano, 117.

Se aprueba el acta de la sesión anterior. Don Carlos Ramírez da cuenta de un trabajo hecho en colaboración con don Jacques Boidin, titulado «Nuevas especies de levaduras aisladas de líquidos curtientes».

A continuación, don Gregorio Fraile lee una comunicación propia: «Algunas consideraciones sobre nódulo-bacterias».

Y no habiendo más asuntos que tratar se levanta la sesión a las 20,50 horas.

Acta de la sesión celebrada el día 19 de octubre de 1953.

Bajo la presidencia de don Antonio Ruiz Falcó y actuando como Secretario don Lorenzo Vilas, se abre la sesión a las veinte horas en el aula del edificio central del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Serrano, 117.

Se aprueba el acta de la sesión anterior. El señor Presidente expone la aportación española al Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Roma el pasado mes. A continuación lee una carta del Profesor Hauduroy, en la que se propone la organización provisional de una Agrupación de las Sociedades Microbiológicas europeas, acordándose aceptar dicha propuesta en principio y elevar este acuerdo al Consejo Superior de Investigaciones Científicas para obtener la autorización correspondiente, antes de comunicar la aceptación al Profesor Hauduroy.

El señor Rubio expone su trabajo «Nuevo método de extracción y ais-

lamiento de las inclusiones cristalinas producidas por el virus «Mosaico del tabaco». El señor Pérez Silva da cuenta de otro acerca de «La naturaleza de los simbiotes intracelulares de Blatella germanica».

El señor Ramírez lee tres trabajos: «Raza de Torulopsis holmii, productora de ácido láctico», de los señores Socías y Ramírez; «Una nueva especie de Endomycopsis: E. balearica, aislada de taninos de encina», de los señores Socías, Ramírez y Genestar, y «Una nueva especie de Debarymoyces: El D. toletanus», de los señores Socías, Ramírez y Peláez.

Por último, el señor Moreno, en nombre propio y en el del señor Paz, presenta un «Primer caso de tos convulsiva A. parapertusis, bacteriológicamente comprobado en España».

Y no habiendo más asuntos que tratar se levanta la sesión a las 21,10 horas.

BIBLIOGRAFIA

INDICE DE ARTICULOS DE REVISTAS

Bajo este epígrafe se efectúa la publicación sistemática, por orden cronológico, de los títulos de los trabajos que han aparecido en los últimos años en las principales revistas microbiológicas. En este número se recogen los títulos correspondientes al tomo 59 (1950) de «Journal of Bacteriology» (Biblioteca del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.—I. E.).

Mediante convenio con el Servicio de Microfilm del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, **Microbiología Española** puede facilitar a los suscriptores reproducciones de los artículos que deseen, para lo cual bastará escribir a la Redacción de la Revista, Serrano, 113 ó 152, Madrid, precisando el número, en negrita, que encabeza el artículo cuya copia se solicita.

Los precios y condiciones se detallan al final de esta Sección.

3.496

VILLELA (Gilberto G.) and CURY (Amadeu).—1950. Studies on the vitamin nutrition of allescheria boydii shear. **Journal of Bacteriology.** 59: 1-11. I. E.

3.497.

GOLD (William) and WATSON (Dennis W.).—1950. Studies on the bacteriophage infection cycle. I.—A lytic activity assay for bacteriophages of clostridium madisonii. **Journal of Bacteriology.** 59: 13-16. I. E.

3.498

GOLD (William) and WATSON (Dennis W.).—1950. Studies on the bacteriophage infection cycle. II.—Phage infection and lysis of clostridium madisonii, a function od pH. **Journal of Bacteriology.** 59: 17-27. I. E.

3.499

OGINSKY (Evelyn L.), SMITH (Patricia H.) and SOLOTOROVSKI (M.).—1950. The action of streptomycin. IV.—Fatty acid oxidation by mycobacterium tuberculosis, avian type. **Journal of Bacteriology.** 59: 29-44. I. E.

3.500

STIER (T. J. B.), SCALF (R. E.) and BROCKMANN (M. C.).—1950. An all-glass apparatus for the continuous cultivation of yeast under anaerobic conditions. **Journal of Bacteriology.** 59: 45-49. I. E.

3.501

JARVIS (F. G.) and JOHNSON (M. J.).—1950. The mineral nutrition of penicillium chrysogenum Q176. **Journal of Bacteriology.** 59: 51-60. I. E.

3.502

CORIELI (Lewis L.), RAKE (Geoffrey), BLANK (Harvey) and McNAIR SCOTT (T. F.).—1950. Electron microscopy of herpes simplex. **Journal of Bacteriology.** 59: 61-68. I. E.

3.503

GOLLINS (E. B.), NELSON (F. E.) and PARMELEE (C. E.).—1950. Acetate and oleate requirements of the lactic group of streptococci. **Journal of Bacteriology.** 59: 64-74. I. E.

3.504

EISENSTARK (A.), McMAHON (K. J.) and EISENSTARK (Roma).—1950. A cytological study of a pleomorphic strain of azotobacter with the electron and phase microscopes and the robinow nuclear-staining technique. **Journal of Bacteriology.** 59: 75-81. I. E.

3.505

ROSENBLUM (Eugene D.) and WILSON (P. W.).—1950. Molecular hydrogen and nitrogen fixation by clostridium. **Journal of Bacteriology.** 59: 83-91. I. E.

3.506

TEAS (Howard J.).—1950. Mutants of bacillus subtilis that require threonine of threonine plus methionine. **Journal of Bacteriology.** 59: 93-104. I. E.

3.507

STREHLER (Bernard L.).—1950. The replacement of para-aminobenzoic acid by methionine in the growth of a neurospora mutant. **Journal of Bacteriology.** 59: 105-111. I. E.

3.508

LICHSTEIN (Herman C.), CHRISTMAN (John) F.) and BOYD (William L.).—1950. The comparative effects of biocytin and a yeast extract concentrate on aspartic acid deaminase. **Journal of Bacteriology.** 59: 113-116.

3.509 I. E.

SLEEPER (B. P.) and STANIER (R. Y.).—1950. The bacterial oxidation of aromatic compounds. I.—Adaptive patterns with respect to polyphenolic compounds. **Journal of Bacteriology.** 59: 117-127. I. E.

3.510

SLEEPER (B. P.), TSUCHIDA (M.) and STANIER (R. Y.).—1950. The bacterial oxidation of aromatic compounds. II.—The preparation of enzymatically active dried cells and the influence thereon of prior patterns of adaptation. **Journal of Bacteriology.** 59: 129-133. i. E.

3.511

EDWARDS (P. R.), BARNES (L. A.) and BABCOCK (Mary C.).—1950. The natural occurrence of phase 2 of salmonella paratyphy A. **Journal of Bacteriology.** 59: 135-136. I. E.

3.512

STANIER (R. Y.), SLEEPER (B. P.), TSUCHIDA (M.) and MacDONALD (D. L.).—1950. The bacterial oxidation of aromatic compounds. III.—The enzymatic oxidation of catechol and protocatechuic acid to β-Ketoapidic acid. **Journal of Bacteriology.** 59: 137-151. I. E.

3.513

KATZNELSON (H.).—1959. Bacillus pulvifaciencs (N. SP.) an organism associated with powdery scale of honeybee larvae. **Journal of Bacteriology.** 59: 153-155. I. E.

3.514

MURRAY (R. G. E.) and DOUGLAS (H. C.).—1950. The reproductive mechanism of rhodomicrobium vannielii and the accompanying nuclear changes. **Journal of Bacteriology.** 59: 157-167. I. E.

3.515

VOLK (Wesley A.) and PENNINGTON (Derrol).—1950. The pigments of the photosynthetic bacterium rhodomicrobium vannielii. **Journal of Bacteriology.** 59: 169-170. I. E.

3.516

FERGUSON (William W.) and ROBERTS (Lucille F.).—1950. A bacteriological and serological study of organism B5W (Bacterium anitratum). **Journal of Bacteriology.** 59: 171-183. I. E.

3.517

CASSEL (William A.).—1950. The use of perchloric acid in bacterial cytology. **Journal of Bacteriology.** 59: 185-187. I. E.

3.518

HUGHES (Kenneth M.).—1950. A demonstration of the nature of polyhedra using alkaline solutions. **Journal of Bacteriology.** 59: 189-195. I. E.

3.519

HARRISON (Arthur P.) jr. and HANSEN (P. Arne).—1950. The bacterial flora of the cecal feces of healthy turkeys. **Journal of Bacteriology.** 59: 197-210. I. E.

3.520

LEDERBERG (Joshua).—1950. The selection of genetic recombinations with bacterial growth inhibitors. **Journal of Bacteriology.** 59: 211-215. I. E.

3.521

TRUSSELL (Paul C.).—1950. The influence of zinc, iron copper and manganese on the production of citric acid by aspergillus niger. **Journal of Bacteriology.** 59: 217-227. I. E.

3.522

KING (Tsoo E.) and CHELDELIN (Vernon H.).—1950. Pantothenic acid studies. VIII.—Growth of microorganisms and counteraction of antimetabolites with a pantothenic acid conjugate (PAC). **Journal of Bacteriology.** 59: 229-236. I. E.

3.523

BREWER (John H.).—1950. The utility of metal petri dish covers with absorptive disks. **Journal of Bacteriology.** 59: 237-239. I. E.

3.524

BUNTING (Mary I.).—1950. The effect surface-active agents on color variation in aging populations of serratia marcescens. **Journal of Bacteriology.** 59: 241-250. I. E.

3.525

LABAW (Louis W.), MOSLEY (Vernon M.) and WYCKOFF (Ralph W. G.).—1950. Radioactive studies of the phosphorus metabolism of escherichia coli. **Journal of Bacteriology.** 59: 251-262. I. E.

3.526

NEILL (James M.), ABRAHAMS (Irving) and KAPROS (Charles E.).—1950. A comparison of the immunogenicity of weakly encapsulated and of weakly encapsulated and of strongly encapsulated strains of cryptococcus neoformans (torula histolytica). **Journal of Bacteriology.** 59: 263-275. I. E.

3.527

FITTING (Charlotte) and SCHERP (Henry W.).—1950. Observations on the metabolism of a strain of neisseria catarrhalis. **Journal of Bacteriology.** 59: 277-286. I. E.

3.528

WYSS (Orville) and WYSS (Margaret Bedell).—1950. Mutants of azotobacter that do not fix nitrogen. **Journal of Bacteriology.** 59: 287-291. I. E.

3.529

SEARS (H. J.), BROWNLEE (Inez) and UCHIYAMA (John K.).—1950. Persistence of individual strains of escherichia coli in the intestinal tract of man. **Journal of Bacteriology.** 59: 293-301. I. E.

3.530

ROGOSA (Morrison) and MITCHELL (Joyce A.).—1950. Induced colonial variation of a total population among certain lactobacilli. **Journal of Bacteriology.** 59: 303-308. I. E.

3.531

METZGER (William I.) and SHAPSE (Joseph B.).—1950. Evaluation of oral aureomicin for intestinal antisepsis. **Journal of Bacteriology.** 59: 309-310. I. E.

3.532

DUFRENDY (Jean) and PRAT (Robertson).—1950. Changes induced in escherichia coli by cepharantine. **Journal of Bacteriology.** 59: 310-311. I. E.

3.533

GERHARDT (Philipp) and WILSON (J. B.).—1950. Attempts to replace the added carbon dioxide required by some strains of brucella abortus. **Journal of Bacteriology.** 59: 311-312. I. E.

3.534

SALVIN (S. B.).—1950. Growth of the yeastlike phase of histoplasma capsulatum in a fluid medium. **Journal of Bacteriology.** 59: 312-313. I. E.

3.535

MORRIS (J. Anthony) and NORMAN (M. C.).—1950. The isolation of listeria monocytogenes from ferrets. **Journal of Bacteriology.** 59: 313-314. I. E.

3.536

WHITLOCK (Coleman M.) jr. and TASHMAN (Sylvia G.).—1950. A report on further in vitro aureomycin sensitivity tests. **Journal of Bacteriology.** 59: 314-315. I. E.

3.537

COLMER (Arthur R.), TEMPLE (Kenneth L.) and HINKLE (Melvin E).—1950. An iron-oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. **Journal of Bacteriology.** 59: 317-328. I. E.

3.538

DULBECCO (R.).—1950. Experiments on photoreactivation of bacteriophages inactivated with ultraviolet radiation. **Journal of Bacteriology.** 59: 329-347. I. E.

3.539

LANGFORD (George C.) jr., FABER (John E.) jr. and PELCZAR (Michael J.) jr.—1950. The occurrence of anaerobic Gram-negative diplocacci in the normal human mouth. **Journal of Bacteriology.** 59: 349-356. I. E.

3.540

WACHSTEIN (M.) and PISANO (M.).—1950. A new staining technique for polar bodies. **Journal of Bacteriology.** 59: 357-360. I. E.

3.541

DAVIS (Frank) and SOLOWEY (Mathilde).—1950. The utilization of some organic compounds by one strain each of salmonella anatum, salmonella oranienburg, and salmonella pullorum. **Journal of Bacteriology.** 59: 361-366. I. E.

3.542

HEAGY (Fred C.).—1950. The effect of 2,4-dinitrophenol and phage T2 on escherechia coli B. **Journal of Bacteriology.** 59: 367-373. I. E.

3.543

CLARK (J. Bennett), HAAS (Felix), STONE (Wilson S.), and WYSS (Orvile). 1950. The stimulation of gene recombination in escherichia coli. **Journal of Bacteriology.** 59: 375-379. I. E.

3.544

SEELEY (H. W.) and VanDEMARK (P. J.).—1950. Partial purification and resolution of acetoacetic decarboxylase. **Journal of Bacteriology.** 59: 381-386. I. E.

3.545

BARD (R. C.) and GUNSALUS (I. C.).—1950. Glucose metabolism of clostridium perfringens: existence of metallo-aldolase. **Journal of Bacteriology.** 59: 387-400. I. E.

3.546

KOLB (Robert W.) and SCHNEITER (Roy).—1950. The germicidal and sporicidal efficacy of methyl bromide for bacillus anthracis. **Journal of Bacteriology.** 59: 401-412. I. E.

3.547

PITTMAN (Margaret) and DAVIS (Dorland J.).—1950. Identification of the koch-weeks bacillus (hemophillus aegyptius). **Journal of Bacteriology.** 59: 413-426. I. E.

3.548

DAVIS (Dorland J.), PITTMAN (Margaret) and GRIFFITTS (James J.).—1950. Hemagglutination by the koch-weeks bacillus (hemophilus aegyptius). **Journal of Bacteriology.** 59: 427-431. I. E.

3.549

SCHMIDT (Clarence F.).—1950. A method for the determination of the thermal resistance of bacterial spores. **Journal of Bacteriology.** 59: 433-437. I. E.

3.550

DELWICHE (Eugene A.).—1950. A biotin function in succinic acid decarboxylation by propionibacterium pentosaceum. **Journal of Bacteriology.** 59: 439-442. I. E.

3.551

GRAY (M. L.), STAFSETH (H. J.) and THORP (Frank) jr.—1950. The use of potassium tellurite, sodium azide, and acetic acid in a selective medium for the isolation of listeria monocytogenes. **Journal of Bacteriology.** 59: 443-444. I. E.

3.552

HARRISON (A. P.) jr. and HANSEN (P. Arne).—1950. A motile lactobacillus from the cecal preces of Turkeys. **Journal of Bacteriology.** 59: 444-446. I. E.

3.553

McKERCHER (D. G.).—1950. The propagation of borrelia anserina in embryonated eggs employing the yolk sac technique. **Journal of Bacteriology.** 59: 446-447. I. E.

3.554

TAMM (Igor) and FLUKE (Donald J.).—1950. The effect of monochromotic ultraviolet radiation on the infectivity and hemagglutinating ability of the influenza virus type a strain PR-8. **Journal of Bacteriology.** 59: 449-461. I. E.

3.555

FOSTER (J. W.), HARDWICK (W. A.) and GUIRARD (Beverly).—1950. Antisporulation factors in complex organic media. I.—Growth and sporulation studies an bacillus larvae. **Journal of Bacteriology.** 59: 463-470 I. E.

3.556

KATZNELSON (H.).—1950. The influence of antibiotics and sulfa drugs on bacillus larvae, cause of american foulbrood of the honeybee, in vitro and in vivo. **Journal of Bacteriology.** 59: 471-479. I. E.

3.557

HEDRICK (L. R.) and BURKE (G. C.).—1950. Yeasts from hawaiian fruit flies: their identification and ability to produce riboflavin. **Journal of Bacteriology.** 59: 481-484. I. E.

3.558

REESE (Elwyn T.), SIU (Ralph G. H.) and LEVINSON (Hillel S.).—1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. **Journal of Bacteriology.** 59: 485-497. I. E.

3.559

AJL (Samuel J.).—1950. Acetic acid oxidation by escherichia coli and aerobacter aerogenes. **Journal of Bacteriology.** 59: 499-507. I. E.

3.560

BOVARNICK (Marianna R.), MILLER (Judith C.) and SNYDER (John C.).—1950. The influence of certain salts, amino acids, sugars, and proteins on the stability of rickettsiae. **Journal of Bacteriology.** 59: 509-522. I. E.

3.561

KUPFERBERG (A. B.), STYLES (H.), SINGHER (H. O.) and WAKSMAN (Selman A.).—1950. The Production of streptocin by different strains of streptomyces griseus. **Journal of Bacteriology:** 59: 523-526. I. E.

3.562

STANIER (R. Y.).—1950. The bacterial oxidation of aromatic compounds IV.—Studies on the mechanism of enzymatic degradation of protocatechuic acid. **Journal of Bacteriology.** 59: 527-532. I. E.

3.563

VanDEMARK (P. J.).—1950. The vitamin requirements for glycerol oxidation by streptococcus faecalis. **Journal of Bacteriology.** 59: 533-539. I. E.

3.564

SIGURDSSON (Björn) and TRYGGVADOTTIR (Anna G.).—1950. Immunization with heat-killed mycobacterium paratuberculosis in mineral oil II.—**Journal of Bacteriology.** 59: 541-543. I. E.

3.565

EVANS (James B.) and NIVEN (C. F.) jr.—1950. A comparative study of known food-poisoning staphylococci and related varieties. **Journal of Bacteriology.** 59: 545-550. I. E.

3.566

LURIA (S. E.) and HUMAN (Mary L.).—1950. Chromatin staining of bacteria during bacteriophage infection. **Journal of Bacteriology.** 59: 551-560. I. E.

3.567

MUDD (Stuart) and SMITH (Andrew G.).—1950. Electron and light microscopic studies of bacterial nuclei. I.—Adaptation of cytological processing to electron microscopy batcerial nuclei as vesicular structures. **Journal of Bacteriology.** 59: 561-573. I. E.

3.568

SMITH (Andrew G.).—1950. Electron and light microscopic studies of bacterial nucleic. II.—An improved staining technique for the nuclear chromatin of bacterial cells. **Journal of Bacteriology.** 59: 575-587. I. E.

3.569

McCLUNG (Norvel M.).—1950. Morphological studies in the genus nocardia. II.—Cytological studies. **Journal of Bacteriology.** 59: 589-602. I. E.

3.570

MURRAY (R. G. E.), GILLEN (D. H.) and HEAGY (F. C.).—1950. Cytological changes in escherichia coli produced by infection with phage T2. **Journal of Bacteriology.** 59: 603-615. I. E.

3.571

PENNINGTON (Derrol).—1950. A reaction of bacterial cells with formaldehyde. **Journal of Bacteriology.** 59: 617-623. I. E.

3.572

EAGLE (Harry), FLEISCHMAN (Ralph) and MUSSELMAN (Arlyne D.).—1950. The effective concentrations of penicillin in vitro and in vivo for streptococci, pneumococci, and treponema pallidum. **Journal of Bacteriology.** 59: 625-643. I. E.

3.573

JEZESKI (J. J.), HALVORSON (H. O.) and MACY (H.).—1950. The action of microorganisms on fats. I.—Oxygen uptake by bacteria in the presence of lipid substrates. **Journal of Bacteriology.** 59: 645-658. I. E.

3.574

MICKELSON (M. N.).—1950. The metabolism of glucose by ashbya gossyph. **Journal of Bacteriology.** 59: 659-666. I. E.

3.575

DONOVICK (Richard), PANSY (Félix), STRYKER (Gladys) and BERNSTEIN (Jack).—1950. The chemotherapy of experimental tuberculois. I.—The in vitro activity of thiosemicarbazides, thiosemicarbazones, and related compounds. **Journal of Bacteriology.** 59: 667-674. I. E.

3.576

HAMBRE (Dorothy), BERNSTEIN (Jack) and DONOVICK (Richard).—1950. The chemotherapy of experimental tuberculosis. II.—Thiosemicarbazones and analogues in experimental tuberculosis in the mouse. **Journal of Bacteriology.** 59: 675-680. I. E.

3.577

ASHENBURG (Norman J.), SANDHOLZER (Leslie A.), SCHERP (Henry W.) and BERRY (George Packer).—1950. The inhibition of bacteriophagy by bacterial and nonbacterial polysaccharides. **Journal of Bacteriology.** 59: 681-687. I. E.

3.578

PACHECO (Genesio) and THIAGO DE MELLO (Milton).—1950. A urease test for the differentiation of brucella suis. **Journal of Bacteriology.** 59: 689-691. I. E.

3.579

SIEGEL (Jack M.) and Kamen (Martin D.).—1950. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. **Journal of Bacteriology.** 59: 693-697. I. E.

3.580

SNIESZKO (S. F.), GRIFFIN (P. J.) and FRIEDDLE (S. B.).—1950. A new bacterium (hemophilus piscium N. SP.) from ulcer disease of trout. **Journal of Bacteriology.** 59: 699-710. I. E.

3.581

JOSLYN (Dwight A.) and GALBRAITH (Margaret).—1950. A turbimetric method for the assay of antibiotics. **Journal of Bacteriology.** 59: 711-716. I. E.

3.582

BECKER (Maurice E.) and PEDERSON (Carl S.).—1950. The physiological characters of bacillus coagulans (baccillus thermoacidurans). **Journal of Bacteriology.** 59: 717-725. I. E.

3.583

KITAY (Estelle), McNUTT (Walters S.) and SNELL (Esmond E.).—1950. Desoxyribosides and vitamin B_{12} as growth factors for lactic acid bacteria. **Journal of Bacteriology.** 59: 727-738. I. E.

3.584

KLEIN (Harold P.) and DOUDOROFF (Michael).—1950. The mutation of pseudomonas putrefaciens to glucose utilization and its enzymatic basis. **Journal of Bacteriology.** 59: 739-750. I. E.

3.585

LICHSTEIN (Herman C.) and WHITE (John E.).—1950. Studies on the disappearance of folic acid from bacterial celis. **Journal of Bacteriology.** 59: 751-754. I.E.

3.586

DIENES (L.), WEINBERGER (Howard J.) and MADOFF (Sarabelle).—1950 The transformation of typhoid bacilli into L. forms under various conditions. **Journal of Bacteriology.** 59: 755-764. I. E.

3.587

WEINBERGER (Howard J.), MADOFF (Sarabelle) and DIENES (L.).—1950. The properties of 1 forms isolated froms s a l m o n e l l a and the isolation of 1 forms from s h i g e l l a. **Journal of Bacteriology.** 59: 765-775. I. E.

3.588

GERHARDT (Philipp), TUCKER (L. A.) and WILSON (J. B.).—1950. The nutrition of brucellae: utilization of single amino acidf for growth. **Journal of Bacteriology.** 59: 777-782. I. E.

3.589

MacLEOD (Robert A.) and SNELL (Esmond E.).—1950. The relation of ion antagonism to the inorganic nutrition of lactic acid bacteria. **Journal of Bacteriology.** 59: 783-792. I. E.

Fotocopias en microfilm.

Microfilm negativo: cada fotograma (24 × 36 mm.), 1 peseta.

Microfilm positivo (indicado cuando hay fotograbados): cada fotograma, 2 pesetas.

Carpeta «Filmoteca» para diez filmofichas: 2 pesetas.

Mínimo pagable en todo encargo: el valor de una filmoficha, 5 pesetas en negativo y 10 pestas en positivo.

A partir de 1.000 fotogramas, precios especiales por convenir.

Opciones que se presentan: en negativo o en positivo; en rollo continuo o en filmofichas; con carpeta «Filmoteca» o filmofichas sueltas; metiendo en cada fotograma dos páginas o sólo una.

Salvo aviso en contrario se servirán los encargos en microfilm negativo, en filmofichas y en carpetas, y el meter una o dos páginas por fotograma se supondrá se deja al discernimiento del Servicio, según sea el original.

La modalidad «filmoficha», por la gran facilidad de ordenación, localización rápida de las cintas y manejo de lectura, supera con mucho a la modalidad en rollo. Se llama «filmoficha» una tira de película de cinco fotogramas y medio (en otros sistemas seis), en que caben diez páginas de libro ordinario (libro abierto, o sea dos páginas cada foto). El medio fotograma que se añade (uno entero en otros sistemas) se destina a «referencia», es decir, autor, título y signatura en la filmoteca y en el centro

de origen. Las filmofichas, para ofrecer tales ventajas, van alojadas en unas carpetas «Filmoteca» especialmente dispuestas para contener diez de ellas (cien páginas o cincuenta folios) en lóculos perfectamente adaptados, con sus referencias numéricas y espacio preciso para títulos, páginas y toda clase de indicaciones útiles.

Fotocopias en papel.

Formato: 9 × 12 cm.: en mate, 3 pts.; con brillo, 3,75 pts.
» 13 × 18 cm.: en mate, 4 pts.; con brillo, 5,25 pts.
» 18 × 24 cm.: en mate, 6 pts.; con brillo, 8,25 pts.
» 21 × 30 cm.: en mate, 6,25 pts.
» 30 × 42 cm.: en mate, 9,25 pts.

N. B. Estos precios están sujetos a cierta variación, según vengan facturadas las partidas de papel.

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL.—Publicados por el Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.

Continuadores de los «Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal». Abiertos a una amplia colaboración, recogen en sus páginas trabajos sobre suelos y fisiología vegetal, tanto del Instituto de origen como de otros Centros investigadores españoles y extranjeros y, asimismo, estudios de tipo informativo y bibliográfico.

Mensual. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 160 pesetas.

ANALES DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE «AULA DEI».—Revista dedicada a la publicación de trabajos originales sobre investigación agrícola y problemas biológicos relacionados con la misma. Publicada por la Estación Experimental de «Aula Dei», Zaragoza.

Cada volumen, excepto Vol. 1, contiene unas 300 páginas, distribuídas en cuatro números, que se publican a intervalos irregulares.

ANALES DEL INSTITUTO BOTANICO «A. J. CAVANILLES».—Publicación del Instituto «Antonio J. de Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica.

Precio del tomo anual, 100 pesetas.

COLLECTANEA BOTANICA.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicado a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás Centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: Sistemática, Florística, Fitosociología, Fisiología, Micología, Briología, Algología, etc.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Ejemplar, 30 pesetas. Suscripción, 45 pesetas.

FARMACOGNOSIA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

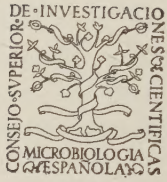
Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de la Farmacognosia, siendo sus finalidades: una, propiamente científica, que trata de Botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra, de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la industria.

Trimestral. Ejemplar, 25 pesetas. Suscripción, 80 pesetas.

GENETICA IBERICA.—Publicación del Laboratorio de Citogenética del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan a la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.


CONSEJO·SVPERIOR·DE·INVESTIGACIONES·CIENTIFICAS
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA